

UNIVERSIDAD DE CÁDIZ



HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DEL MAR

Implicaciones de las Trampas Extracelulares de Neutrófilos (NETs) en la gravedad y complicaciones de la COVID-19 (Micro-NET-COVID-19)

TESIS DOCTORAL

Patricia Pérez Guerrero

Cádiz, 2024

Doctoranda:

Patricia Pérez Guerrero

Cádiz, 2024



Implicaciones de las Trampas Extracelulares de Neutrófilos (NETs) en la gravedad y complicaciones de la COVID-19 (Micro-NET-COVID-19)

Tesis para aspirar al grado de Doctor presentada por la licenciada Dña. Patricia Pérez Guerrero. Dirigida por D. José Antonio Girón González, Catedrático de Universidad, Departamento de Medicina, Universidad de Cádiz.

CÁDIZ, 2024



D. José Antonio Girón González, Catedrático de Universidad, Departamento de Medicina,
Universidad de Cádiz,

CERTIFICA

Que la tesis para optar al grado de Doctor por la Universidad de Cádiz que lleva por título
“IMPLICACIONES DE LAS NETs EN LA GRAVEDAD Y COMPLICACIONES DE LA COVID 19.
(MicroNET-COVID-19)” ha sido realizada por Dña. Patricia Pérez Guerrero bajo mi
supervisión, considerando que reúne los requisitos necesarios para su presentación.
Y para que conste donde proceda firmo el presente certificado en Cádiz a 14 de Febrero

de 2024.

Fdo. Dr. D. José A. Girón González

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres, por haberme enseñado que con esfuerzo, trabajo y cariño se pueden conseguir los propósitos que cada persona considera importantes.

AGRADECIMIENTOS

Muchas gracias en primer lugar a mi director de tesis, José Antonio Girón González, por todo el esfuerzo conjunto y todo lo que he aprendido realizando este trabajo junto a él.

A todos los compañeros de la Unidad de Investigación, colaboración imprescindible para llevar a cabo este trabajo: Francisco Illanes Álvarez, Denisse Márquez Ruiz, Sara Cuesta Sancho, Mercedes Márquez Coello.

Al Servicio de Medicina Interna del Hospital Universitario Puerta del Mar, en especial a la Dra Francisca Guerrero Sánchez, por ayudarme a compaginar mi trabajo en el Hospital con el trabajo de la Tesis.

A la Coordinación de Programa de Doctorado por su inestimable ayuda en los trámites administrativos que este tipo de trabajos lleva parejo

A mi familia, en especial a Alfredo, por toda la sobrecarga que ha supuesto para él, y a los niños, por todo el soporte que suponen para mí.

Muchas gracias a todos

INDICE

1.- ABREVIATURAS.....	9
2.- JUSTIFICACION DEL TEMA	14
3.- REVISION CRITICA DE LOS CONOCIMIENTOS.....	17
3.1.- INFECCION POR SARS CoV-2	18
3.1.1.- ANTECEDENTES Y SITUACION ACTUAL DE LA PANDEMIA	18
3.1.2.- CARACTERISTICAS DEL SARS CoV-2	20
3.1.3.- EPIDEMIOLOGIA	27
3.1.4.- INFECCION POR SARS CoV-2: COVID-19	30
3.1.5. – DIAGNOSTICO DE LA INFECCION POR SARS CoV-2.....	47
3.1.6. – PRONOSTICO y MORTALIDAD DE LA COVID-19.....	56
3.1.7.- EVOLUCION DE LOS DISTINTOS TRATAMIENTOS.....	64
3.1.8.- REINFECCION POR SARS CoV-2 , INFECCIONES DE BRECHA, REACTIVACION VIRAL y LONG COVID	76
3.1.9.- PREVENCIÓN.....	77
3.2.- EL SISTEMA INMUNE	79
3.2.1.- LA INMUNIDAD INNATA.....	80
3.2.2.- LA INMUNIDAD ADQUIRIDA.....	81
3.2.3.- ACTIVACIÓN Y REGULACIÓN DEL SISTEMA INMUNE POR EL SARS-COV-2.....	82
3.2.4.- LINFOPENIA, NEUTROFILIA Y TORMENTA DE CITOCINAS.....	84
3.3.- NETs Y COVID-19	86
3.3.1.- PAPEL DE LOS POLIMORFONUCLEARES NETROFILOS FORMADORES DE NETS EN LA COVID-19.	86
3.3.2.- LAS NETS Y EL DAÑO PULMONAR EN LA COVID-19	88
3.3.3.- IMPLICACIONES DE LAS NETS EN LA ACTIVACION DE CELULAS ENDOTELIALES, COAGULOPATIA E INMUNOTROMBOSIS	89
4.- HIPOTESIS.....	93
5.- OBJETIVOS.....	95
6.- MATERIAL Y METODOS	97
6.1.- DISEÑO DEL ESTUDIO	98
6.2.- ÁMBITO DE ESTUDIO Y SELECCIÓN DE LOS PACIENTES	98
6.2.1.- Área de referencia	98
6.2.2.- Criterios de Inclusión y de exclusión	99
6.2.3.- Tamaño muestral.....	100
6.2.4.- Población control.....	100
6.3.- FUENTES DE INFORMACIÓN, RECOGIDA DE DATOS:	100

6.3.1.- Rastreo de casos	100
6.3.2.- Recogida de la Información:	101
6.3.3.- Validacion de la información recogida.	101
6.4.- VARIABLES DE ESTUDIO	101
6.5.- PROTOCOLO DE ESTUDIO Y SEGUIMIENTO	102
6.6.- ESTUDIOS Y GESTIÓN DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS	106
6.6.1.- Determinaciones relativas a la infección por SARS CoV-2	106
6.6.2.- Determinación de parámetros inflamatorios e inmunes	107
6.7.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO	108
6.7.- ASPECTOS LEGALES Y ÉTICOS.....	111
7.- RESULTADOS	113
7.1.- Estadística descriptiva.....	114
7.2.- Tratamiento recibido.	119
7.3.- Evolución de los parámetros gasométricos y analíticos de los enfermos que sobrevivieron	126
7.3.1.- Evolución de los parámetros gasométricos y analíticos de los enfermos que sobrevivieron y no precisaron tratamiento esteroideo.....	134
7.3.2.- Evolución de los parámetros gasométricos y analíticos de los enfermos que sobrevivieron y fueron tratados con corticoides, sin ningún otro inmunomodulador.	135
7.3.3.- Evolución de los parámetros gasométricos y analíticos de los enfermos que sobrevivieron y fueron tratados con corticoides más baricitinib.....	139
7.3.4.- Evolución de los parámetros gasométricos y analíticos de los enfermos que sobrevivieron y fueron tratados con corticoides más tocilizumab.	142
7.4.- Evolución de los enfermos durante la hospitalización.	146
8.- DISCUSION	152
8.1.- CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MUESTRA	154
8.2.- BIOMARCADORES DE INVESTIGACIÓN	155
8.2.1.- NETs	156
8.2.2.- ACTIVACIÓN ENDOTELIAL.....	157
8.2.3.- ACTIVACIÓN PLAQUETARIA	160
8.3.- TRATAMIENTO EMPLEADO Y EVOLUCIÓN DE LOS ENFERMOS.....	163
8.4.- FACTORES PRONÓSTICOS	167
9.- CONCLUSIONES.....	172
10.- BIBLIOGRAFIA:	175
11.- ANEXOS.....	207

1.-ABREVIATURAS

ABREVIATURAS

- Ac: Anticuerpo
- AcMo Anticuerpo monoclonal
- ACE2 Enzima convertidora de la angiotensina 2
- ACTH Hormona adrenocorticotropa
- ADN Ácido desoxirribonucleico
- AEMPS Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios
- AT Angiotensina
- Ag Antígeno
- ALT Alanina amino transferasa
- ARN Ácido ribonucleico
- ARDS Acute respiratory distress syndrome
- AST Aspartato amino transferasa
- APC Célula presentadora de antígeno
- CNAF Cánulas nasales de alto flujo
- CD Células dendríticas
- *CD* Cluster de diferenciación
- COVID-19 Enfermedad por Coronavirus 19
- Ct Cycle threshold o umbral de ciclos
- CXCR4 Ligando 4 de quimiocina o PF4
- DAMPs Señales endógenas asociadas a daño tisular
- EDTA Ácido etilendiaminotetraacético, agente quelante
- ELISA Acrónimo del inglés Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay,

Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzima

- ECMO Oxigenación por membrana extracorpórea
- EMA Agencia Europea de medicamentos
- GOT Transaminasa glutámico oxalacética
- gp Glicoproteína
- GPT Transaminasa glutámico pirúvica
- HLA Antígenos leucocitarios humanos
- Ig Inmunoglobulina
- IL Interleucina
- IFN Interferón
- IMC Índice de masa corporal
- LDH Lactato deshidrogenasa
- MERS CoV Síndrome Respiratorio de Oriente Próximo
- NAAT Amplificación basada en ácidos nucleicos
- NETs Neutrophils extracellular traps o trampas extracelulares de neutrófilos
- NETosis Proceso de producción de NETs por los neutrófilos
- NEWS2 National Early Warning Score
- NK Acrónimo del inglés Natural Killer, células citotóxicas naturales
- NF- κ B Factor nuclear κ B
- OMS Organización Mundial de la Salud
- ORF Open Reading Frame

- PAMPs Patrones moleculares asociados a patógenos
- PaO₂/FiO₂ Relación entre la presión arterial parcial de oxígeno y la fracción de oxígeno inspirado
- PBMC Células mononucleares de sangre periférica
- PCR Reacción en cadena de la polimerasa
- PF4 Factor plaquetario 4 o ligando 4 de quimiocina CXCL4
- PMN Leucocitos polimorfonucleares neutrófilos
- PRRs Receptores de reconocimiento de patrones
- RAS Sistema renina angiotensina
- RNL Ratio o relación neutrofilos - linfocitos
- ROC Receiver operating curve
- ROS Radicales de oxígeno activo
- rRT-PCR Real time reverse transcription polymerase chain reaction
- PMPRSS2 Serina-proteasa transmembrana tipo 2
- SARSCoV2 Síndrome respiratorio agudo grave por coronavirus 2
- SDRA Síndrome de distrés respiratorio agudo
- SRAA Sistema renian angiotensina aldosterona
- Th Linfocitos T colaboradores
- TNF Factor de necrosis tumoral
- TLR Receptor tipo Toll
- VCAM1 Molécula de adhesión celular vascular 1
- VEGF Factor de crecimiento vascular endotelial
- VMNI Ventilation mecánica no invasiva

- VOC Variant of concern
- VOI Variant of interest

2. – JUSTIFICACION DEL TEMA

El síndrome respiratorio agudo grave por coronavirus 2 (SARS-CoV-2) es el responsable de la pandemia surgida en China en 2019 conocida como enfermedad por coronavirus (COVID-19). Está producida por el SARS-CoV-2, un RNA virus. Aunque la mayoría de los casos cursan con síntomas leves, un 10-15% presentan una neumonía grave que, a su vez, puede progresar a distrés respiratorio agudo (ARDS, por las siglas en inglés), fallo multiorgánico y muerte.

La respuesta inmune es esencial para la defensa antiviral. Sin embargo, los pacientes que desarrollan síntomas graves presentan una desregulación de la respuesta inmune, que conlleva a una liberación descontrolada de citoquinas inflamatorias (denominada tormenta de citoquinas o *cytokine storm*) con el consecuente desarrollo de distrés respiratorio y trombosis microvascular, que llevan asociados una mortalidad elevada.

En este sentido, la gran mayoría de los estudios hasta ahora habían prestado especial atención al papel de los macrófagos como célula principal implicada en esta desregulación inmunitaria secundaria a la infección por SARS CoV-2. Sin embargo, análisis basados en autopsias de estos pacientes han demostrado que los polimorfonucleares neutrófilos (PMN) son las células predominantes en los alvéolos y tejido respiratorio en la infección por SARS CoV-2.

Los PMN son una de las primeras líneas de defensa en las infecciones, incluida la infección por SARS CoV-2, y últimamente se han relacionado con la etiopatogenia y pronóstico de la COVID-19. Ejercen su acción a través de la fagocitosis, producción de radicales libres de oxígeno, secreción de enzimas proteolíticas y citocinas.

Recientemente se ha destacado como mecanismo de actuación de los PMN un proceso denominado NETosis, consistente en la liberación al espacio extracelular de NETs (Neutrophils Extracellular Traps), que son redes de cromatina, histonas, péptidos microbicidas o enzimas citotóxicas, muy adherentes y cuya función es la aglutinación de bacterias, hongos y virus, favoreciendo su eliminación. Una NETosis aguda y controlada es un mecanismo de defensa eficiente ya que impide daños colaterales en los tejidos, concentrando la acción antimicrobiana y reduciendo la toxicidad atribuible a las proteasas; sin embargo, una NETosis descontrolada puede contribuir a propagar la respuesta inflamatoria y favorecer las trombosis microvasculares.

En la infección grave por COVID-19 se detecta, además de una elevación de citocinas, una neutrofilia. Más aún, el incremento de neutrófilos circulantes o, alternativamente, la relación polimorfonucleares/linfocitos, al inicio del cuadro se ha considerado como un parámetro pronóstico de la enfermedad.

Atendiendo a los puntos anteriores, planteamos el análisis de los mecanismos patogénicos de los PMN en la COVID-19, con especial atención a la NETosis dependiente de los mismos y a las relaciones existentes entre la activación de PMN y endotelio, plaquetas y sistema de la coagulación que justifiquen las alteraciones vasculares y de oxigenación detectadas en estos enfermos.

3. – REVISION CRITICA DE LOS CONOCIMIENTOS

3.1 – INFECCION POR SARS CoV-2

3.1.1.– ANTECEDENTES Y SITUACION ACTUAL DE LA PANDEMIA

La infección por SARS CoV-2 fue identificada por primera vez en diciembre de 2019 en Wuhan, una ciudad de la provincia China de Hubei, como responsable de un grupo de casos de neumonía, que con posterioridad se propagó rápidamente por todo el mundo, convirtiéndose en una emergencia sanitaria mundial.¹

Un nuevo *beta-coronavirus* fue identificado como responsable de estos casos de neumonía, el virus denominado *coronavirus responsable del síndrome respiratorio agudo severo tipo 2* o SARS CoV-2.

En Febrero de 2020 la Organización Mundial de la Salud (OMS) designó a esta infección como COVID-19 (enfermedad por coronavirus 2019). En pocos meses la COVID-19 se había extendido por varios continentes provocando muertes de manera exponencial, declarándose pandemia mundial el 11 de marzo de 2020.

Hasta el 7 de enero de 2024, se habían notificado más de 774 millones de casos confirmados, y más de 7 millones de muertes en todo el mundo.²

La pandemia no sólo ha influido en la salud pública sino también en la economía y en la sociedad a nivel interpersonal y afectivo. Muchos países han visto mermada su actividad económica y a nivel individual se ha observado una disminución en la calidad de vida de las personas.

Los esfuerzos referentes a este tema han sido sobresalientes, con el objetivo de buscar un tratamiento efectivo y/o preventivo en tiempo récord para controlar esta infección. La aparición de las vacunas ha supuesto un gran avance en el control de la

infección tanto para su prevención como para disminuir su gravedad. Sin embargo, a pesar de las altas tasas de vacunación en la población, la presencia de algunos factores como la variabilidad del virus, la falta de coordinación a nivel mundial, la desigualdad social y económica y, por supuesto, el comportamiento humano han condicionado que la infección por SARS CoV-2 aún represente un gran desafío y que impacte de manera importante en determinados grupos poblacionales, como los inmunodeprimidos y personas pobres.

En mayo de 2023, el Comité de Emergencia del Reglamento Sanitario Internacional por COVID-19 ponía fin al estatus de emergencia sanitaria mundial por la enfermedad. Además, la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) afirmaba que la situación epidemiológica era menos compleja, por lo que la intervención y priorización de tratamientos por parte de la AEMPS ya no era necesaria.

La OMS actualizó en mayo de 2023 el Plan Mundial de Preparación, Disposición Operativa y Respuesta frente a la COVID-19, un día antes del decreto del fin de la emergencia sanitaria mundial. Esta organización presentó una guía para la transición de la fase de emergencia a un escenario de respuesta continua y a largo plazo frente a los casos de COVID-19³. Afirmó que “el SARS CoV-2 ha llegado para quedarse” y la estrategia llama a todos los países a implementar medidas integrales, incorporando a la COVID-19 en sus programas habituales de control y prevención de enfermedades. Se están haciendo esfuerzos por proporcionar recomendaciones claras para la práctica clínica y directrices evolutivas sobre la COVID-19 que orienten las políticas y la práctica a nivel mundial.

3.1.2. – CARACTERISTICAS DEL SARS CoV-2

3.1.2.1 - FILOGENETICA Y ESTRUCTURA DEL VIRUS

El SARS-CoV-2 es un RNA virus que pertenece a la familia *Coronaviridae*, subfamilia *Orthocoronavirinae*. Esta subfamilia comprende cuatro géneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* y *Deltacoronavirus*. El SARS-CoV2 pertenece al género *Betacoronavirus*, subgénero *Sarbecovirus*.⁴

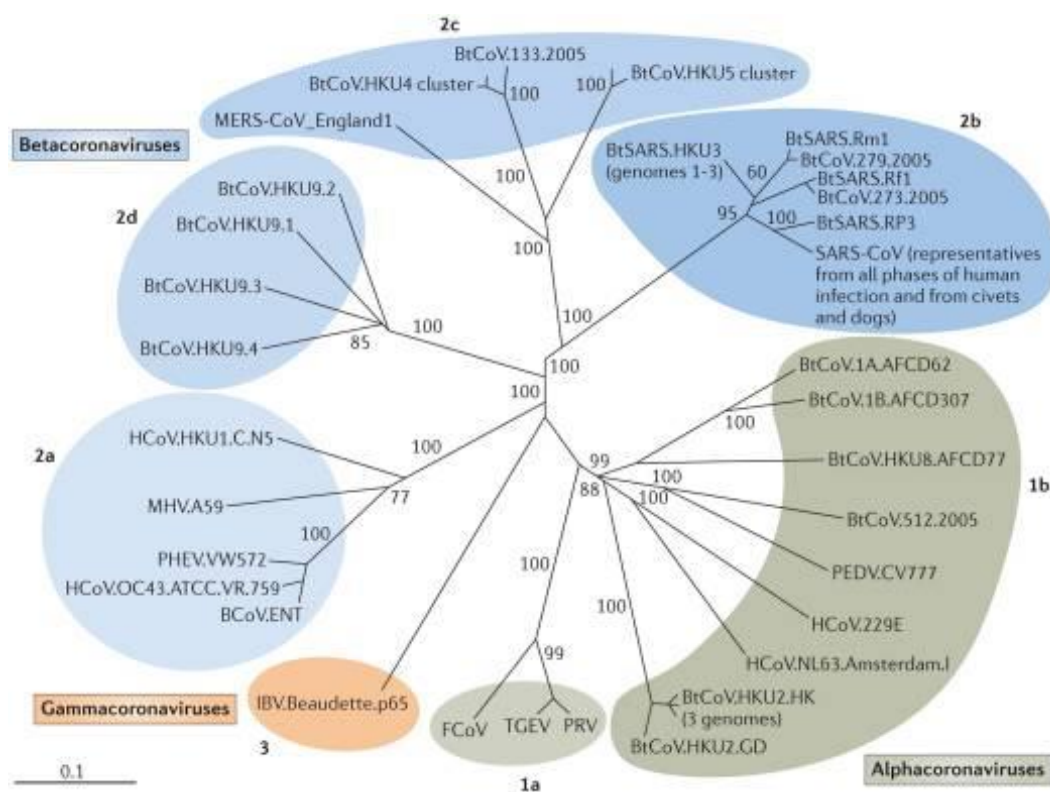


Figura 1. Filogenia del virus SARS CoV-2⁵

Se trata de una infección zoonótica. Los coronavirus causan habitualmente infecciones respiratorias en mamíferos, como murciélagos, gatos o camellos, y ciertas especies de aves.⁶ Los síntomas y el tropismo tisular pueden variar entre las diferentes especies.⁷

Hasta la aparición del SARS-CoV-2, se habían descrito seis coronavirus en seres humanos. Cuatro de ellos (HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43 y HKU1) son responsables de un número importante de infecciones leves del tracto respiratorio superior en personas adultas inmunocompetentes, así como de cuadros más graves en niños y ancianos.

Dos coronavirus, de descubrimiento anterior al SARS-CoV2, dan lugar a cuadros graves (SARS-CoV-1, responsable del Síndrome Respiratorio Agudo Grave -por sus siglas en inglés, SARS-) y MERS-CoV, causante del Síndrome Respiratorio de Oriente Próximo (MERS-CoV) ⁸. En 2003, el SARS-CoV-1 ocasionó más de 8.000 casos en 27 países y una letalidad del 10%; desde entonces no se ha vuelto a detectar en humanos. Desde 2012 se han notificado más de 2.500 casos de MERS-CoV, la mayoría de ellos en Arabia Saudí, con una letalidad de 34%.

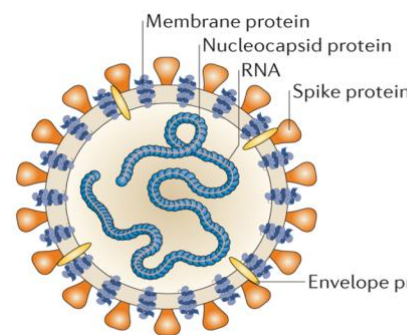
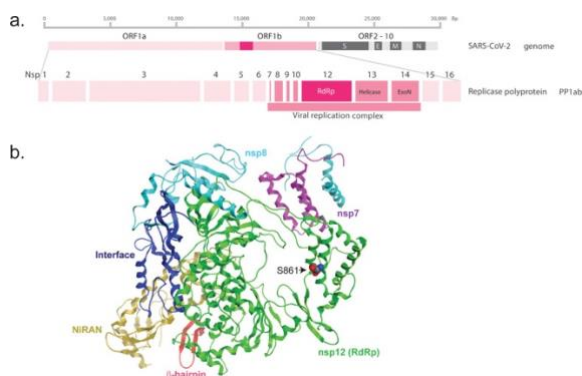
El virus causante de los primeros 9 casos de neumonía, descritos en ciudadanos de Wuham (China) en Diciembre de 2019, fue aislado y secuenciado⁹. Los genomas completos secuenciados de estos 9 sujetos eran prácticamente idénticos entre sí con un porcentaje de homología del 99%, lo que apoya la idea de que se trataba de un virus de muy reciente introducción en la población humana.

Tras realizar el análisis filogenético de estas secuencias, se observó una alta homología con virus del género Betacoronavirus, concretamente un 88% de identidad con dos coronavirus aislados de murciélagos en 2018. Estas secuencias mostraron, sin embargo, una homología de secuencia menor con el virus del SARS CoV-1 (79%) y el virus del MERS (50%). Esta diferencia con el SARS-CoV-1 se consideró suficiente para clasificar a este patógeno como un nuevo miembro del género *Betacoronavirus*, denominado SARS-CoV-2 ¹⁰.

Estructuralmente los coronavirus son virus esféricos de 100-160 nm de diámetro, con envuelta, que contienen ARN monocatenario (ssRNA) de polaridad positiva de entre 26 y 32 kilobases de longitud. Su envoltura tiene un diámetro entre 60 y 140 nm y le confiere una morfología redondeada o elíptica¹¹

La secuencia genómica de referencia del SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1 está compuesta por 29.903 nucleótidos, siendo uno de los genomas más grandes de los virus ARN existentes. Presenta una estructura y orden de los genes similar a otros coronavirus. El genoma tiene un número variable de los denominados Open Reading Frame (ORF, siglas en inglés) que son secuencias de ARN comprendidas entre dos codones, uno de transducción y otro de terminación. El de mayor tamaño es el gen ORF1ab que traduce dos poliproteínas, pp1a y pp1b, que darán lugar a 16 proteínas no estructurales (NSP). Los ORF restantes codifican proteínas accesorias y estructurales. El resto del genoma del virus SARS-CoV-2 codifica 4 proteínas estructurales que son necesarias para el ensamblaje y la capacidad infecciosa del virus: la proteína S (spike protein), la proteína E (envelope), la proteína M (membrane) y la proteína N (nucleocapsid). La proteína N está en el interior del virión, asociada al RNA viral, y las otras cuatro proteínas están asociadas a la envuelta viral.

La proteína S está situada en la superficie externa de la envoltura, se ensambla en homotrímeros y conforma una estructura tridimensional que sobresale de la envuelta del virus. Consta de dos subunidades: la S1 que determina el tropismo por el receptor específico y la S2 que interviene en el proceso de unión al receptor de la célula huésped¹². Este receptor en las células eucariotas humanas es la enzima convertidora de la angiotensina 2 (ACE2). En consecuencia, la proteína S es la proteína determinante del tropismo del virus.¹³



3.1.2.2.- CICLO REPLICATIVO VIRAL

El SARS CoV-2 se fija al receptor de la enzima convertidora de angiotensina II (ECA-2 o ACE-2 por sus siglas en ingles), invadiendo a las células que expresan dicho receptor.¹⁵

Utiliza la serina-proteasa transmembrana tipo 2 o TMPRSS2 para escindir el receptor ACE2 y activar la proteína S del virus ¹⁶, permitiendo la fusión de la membrana viral con la celular. Tras la unión, se produce un cambio conformacional de la proteína S que facilita la fusión de la envoltura del SARS-CoV-2 con la membrana de la célula infectada, haciendo posible la entrada del ARN genómico al compartimento intracelular.

Una vez en el interior celular, se activa un proceso de traducción de poliproteínas (pp1a y pp1b), que se escinden por proteólisis en proteínas menores hasta formar una serie de proteínas no estructurales del complejo transcriptasa-replicasa viral. Se trata de un proceso muy dinámico en el que las ARN-polimerasas sintetizan ARN mensajeros subgenómicos, que codifican proteínas accesorias y proteínas estructurales. El

ensamblaje final del ARN genómico y proteínas víricas esenciales en viriones se realiza en el retículo endoplásmico y el aparato de Golgi. Los viriones son transportados en vesículas y finalmente liberados para infectar a otras células en un nuevo ciclo ¹²

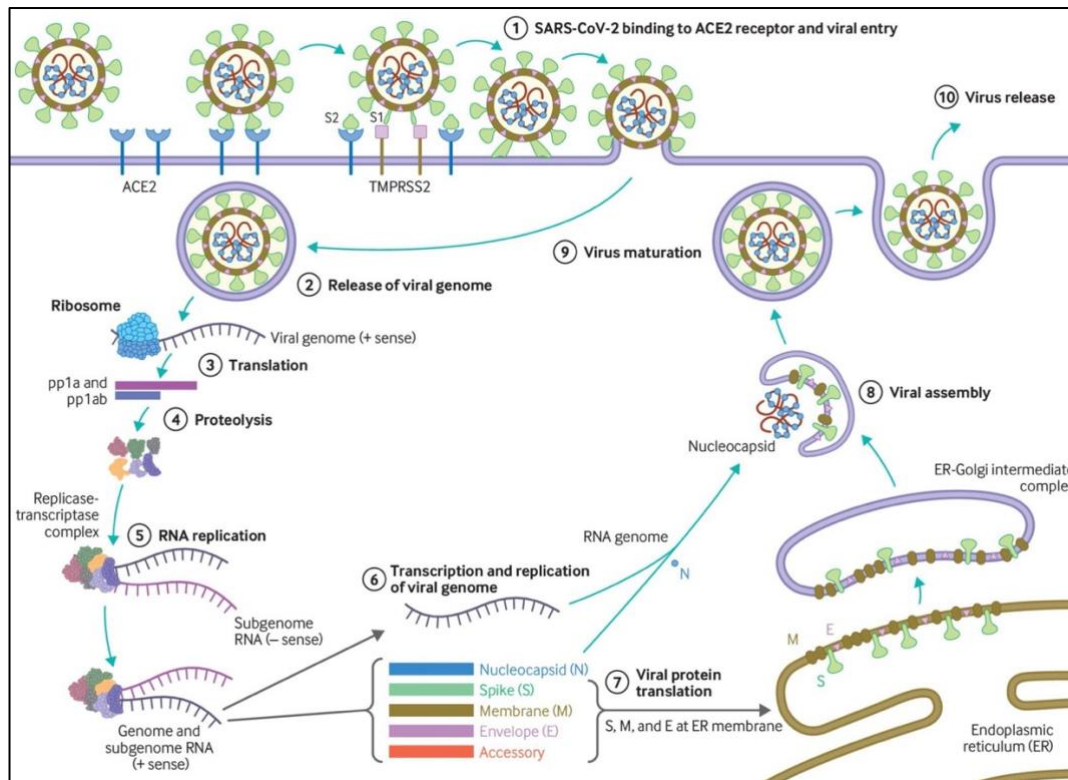


Figura 4. Ciclo replicativo viral. (1) El virus se une a la ACE 2 como receptor de la célula diana del huésped en sinergia con la serina proteasa transmembrana tipo 2 del huésped (proteína de la superficie celular), que se expresa principalmente en las células epiteliales de las vías respiratorias y en las células endoteliales vasculares. Esto conduce a la fusión de membranas y libera el genoma viral en el citoplasma del huésped (2). Las etapas (3-7) muestran los pasos restantes de la replicación viral, que conducen al ensamblaje, maduración y liberación del virus. ¹⁷

3.1.2.3. - MUTACIONES Y VARIANTES DEL VIRUS SARS CoV-2

A lo largo del curso de la pandemia se han descrito numerosas variantes de SARS-CoV-2 como consecuencia de mutaciones aleatorias, que muestran diferencias genéticas con la secuencia original del virus. Estas variantes pueden tener aumentada o disminuida la capacidad de infectividad y la virulencia. Además, las mutaciones pueden aumentar la

capacidad del virus para evadir las respuestas inmunitarias adaptativas tras la infección o vacunación.

La tasa estimada de mutación del virus SARS CoV-2 es similar a la de otros virus del orden de los Nidovirales, pero mucho menor que otros ARN virus como el virus de la hepatitis C o el VIH, ya que poseen un mecanismo intrínseco de corrección de errores de replicación del que otros ARN virus carecen. Sin embargo, muestra una enorme capacidad de evolución y variación debida a su alta transmisibilidad.

Desde diciembre de 2020, la OMS considera con el término variante de interés (VOI, *variant of interest*, de sus siglas en inglés) a aquellas variantes con cambios fenotípicos o mutaciones conocidas en situación de transmisión comunitaria o presencia en distintos países y como variante de preocupación (VOC, *variant of concern* de sus siglas en inglés) cuando muestra ciertas características, como:

- Aumento en la transmisibilidad o virulencia.
- Escape a la respuesta inmune (adquirida tras infección natural o generada por algunas vacunas y respuesta a anticuerpos monoclonales).
- Disminución en la sensibilidad de los métodos de diagnóstico microbiológico.
- Disminución de la respuesta al tratamiento.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha ido asignando letras griegas a las diferentes variantes de preocupación identificadas. Entre las variantes y subvariantes más importantes del SARS CoV-2 hasta ahora descritas destacan: Alpha, Beta, Gamma, Delta y Omicron; Omicron ha desplazado al resto de las variantes.

La variante Alpha (B.1.1.7) se detectó por primera vez en el Reino Unido y demostró ser altamente infecciosa y posiblemente más virulenta que las variantes

aisladas con posterioridad. La variante Beta (B.1.351) se identificó originalmente en Sudáfrica. La variante Gamma (P.1) se identificó en Manaus, Brasil; y la variante Delta fue detectada en la India.

La evolución ha llevado al SARS-CoV-2 hacia la variante Omicron, que acumula numerosas mutaciones en la spike. La variante Ómicron fue designada como VOC en noviembre de 2021 y rápidamente se convirtió en la variante dominante en todo el mundo. Las subvariantes de Omicron BA.1, BA.1.1 y BA.2 surgieron a principios o mediados de 2022. Las subvariantes BA.4 y BA.5 y, más recientemente, otras subvariantes como BQ.1, BQ.1.1, XBB y XBB.1.5 están circulando ya por todo el mundo. Las subvariantes de Omicron más recientes son más transmisibles que las variantes anteriores y no son susceptibles a ninguno de los anticuerpos monoclonales (AcMo) anti-SARS-CoV-2 que se habían desarrollado para el tratamiento y la prevención de COVID-19. Sin embargo, los casos son menos graves.

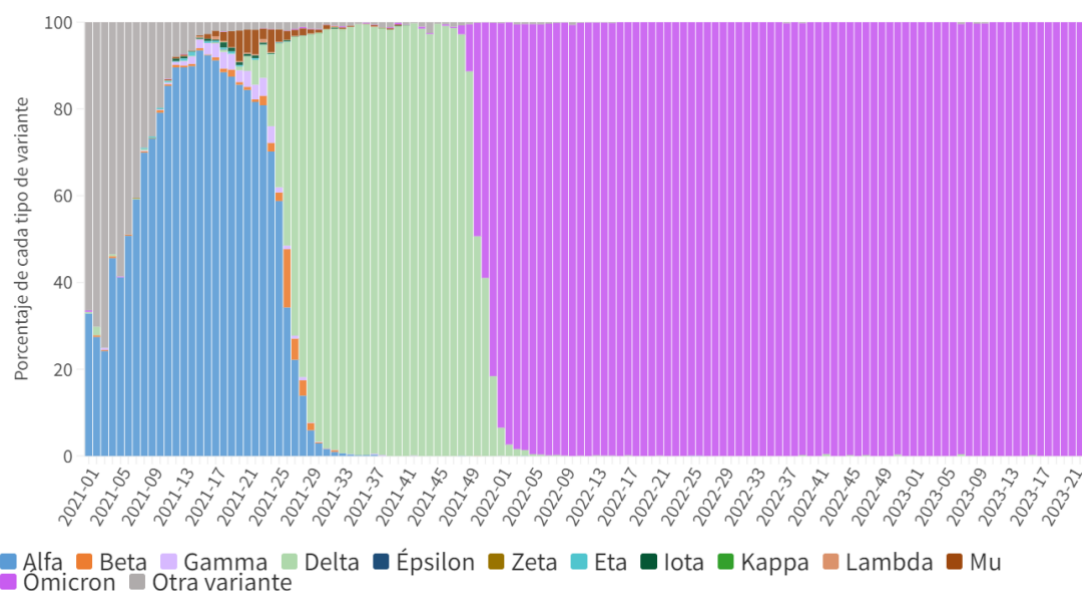


Figura 5. Evolución de las variantes de SARS-CoV-2 entre las semanas 1 de 2021 a 23 de 2023 (04.01.2021 a 11.06.2023). Fuente: SiViEs a 30.06.2023.

Actualmente a nivel mundial, la variante JN1 es el VOI más frecuente y ha sido descrita en 71 países; sin embargo, la evaluación inicial de riesgo que se publicó el 19 de diciembre de 2023 era de bajo riesgo para la salud pública a nivel mundial basada en la evidencia.

Debido a que la investigación sobre las variantes evoluciona rápidamente y la clasificación de las mismas puede cambiar con el tiempo, existen sitios web, como el de la OMS (<https://www.who.int/groups/technical-advisory-group-on-sars-cov-2-virus-evolution>) o en España <https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/situacionActual.htm> que proporcionan actualizaciones periódicas sobre dichas variantes, prestando especial atención al impacto que puedan tener en el diagnóstico, prevención y tratamiento.

3.1.3. – EPIDEMIOLOGIA

La distribución de la COVID-19 es a nivel mundial, aunque la tasa de la infección ha variado en función de la localización geográfica y las etapas de la pandemia.

El brote comenzó en Wuhan, provincia de Hubei, China, en diciembre de 2019 cuando se reconoció a un grupo de pacientes con neumonía de causa desconocida. Se declaró pandemia mundial el 11 de Marzo de 2020. El 1 de Julio de 2020 el SARS CoV-2 había afectado a más de 200 países resultando en más de 10 millones de casos identificados. Hasta el 7 de enero de 2024, se habían notificado más de 774 millones de casos confirmados de COVID-19; y más de 7 millones de muertes en todo el mundo.

Los datos proporcionados por la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE) española incluyen información clínico-epidemiológica acerca de esta

infección. El último informe publicado de la situación epidemiológica de la COVID 19 en España es el numero 181 que comprende hasta el 30 de Junio 2023. Hasta dicha fecha, se habían notificado en nuestro país 13.914.811 casos confirmados de COVID-19 y 121.760 fallecidos. ¹⁸

Atendiendo a RENAVE, en España se han identificado siete periodos epidémicos de COVID-19. ¹⁹

- PRIMER PERIODO: Desde el inicio de la pandemia hasta el 21 de junio de 2020, con el fin del estado de alarma en España.
- SEGUNDO PERIODO: Desde el 22 de junio hasta el 6 de diciembre de 2020.
- TERCER PERIODO: Desde el 7 de diciembre de 2020 hasta el 14 de marzo de 2021.
- CUARTO PERIODO: Desde el 15 de marzo de 2021 hasta el 19 de junio.
- QUINTO PERIODO: Desde el 20 de junio de 2021 hasta el 13 de octubre.
- SEXTO PERIODO: Desde el 14 de octubre de 2021 hasta el 27 de marzo de 2022, el día previo a la entrada en vigor de la nueva estrategia de vigilancia.
- SEPTIMO PERIODO: Comienza a partir del 28 de Marzo de 2022, momento de entrada en vigor de la nueva estrategia de vigilancia por la que se establece el diagnóstico de todos los casos sospechosos de personas de 60 años o más y de los casos hospitalizados de cualquier edad.

El fin de la emergencia de salud pública fue declarado el 5 de Mayo de 2023. En ese mismo mes la Organización Mundial de la Salud (OMS) presentó una guía para la transición de la fase de emergencia a un escenario de respuesta continua y a largo plazo, frente a los casos de COVID-19. El documento destaca algunas herramientas para lograr

estos objetivos, como el manejo de COVID-19 en los servicios de atención primaria, la vacunación de poblaciones en riesgo, además del diagnóstico y tratamiento tempranos. También se reforzó la necesidad de proteger a los trabajadores de la salud y otros grupos susceptibles. La guía describe además la importancia de la vigilancia y el seguimiento continuos de las variantes del SARS-CoV-2 ³.

Según la OMS se necesitan tres pilares en la lucha frente al SARS-CoV2:

1. Reducir y controlar la incidencia de variantes del SARS-CoV-2 con especial atención a las poblaciones vulnerables y de alto riesgo.
2. Prevenir, diagnosticar y tratar la COVID-19 para reducir las tasas de mortalidad y morbilidad, así como las secuelas a largo plazo.
3. Apoyar a otros países en la transición de una respuesta a la crisis a una gestión sostenible, integrada y a largo plazo de la enfermedad.

El SARS-CoV2 puede transmitirse a partir de portadores asintomáticos, presintomáticos y sintomáticos. El período de incubación medio de COVID-19 es de 5.1 días, oscilando desde 2 a 14 días en el 98% de los pacientes, pudiendo variar este tiempo en función de la variante circulante. El 97,5% de los pacientes que desarrollan síntomas lo harán dentro de los 11,5 días siguientes al contacto ²⁰. Aunque la mayoría de las personas son asintomáticas o presentan síntomas leves, hasta un 20 % desarrollará una infección grave o crítica que precisará de hospitalización y entre el 3 al 20 % de estos pacientes que ingresan fallecerá ²¹.

El SARS CoV-2 puede afectar a cualquier persona, pero la probabilidad de desarrollar un COVID-19 grave va a depender de la edad, sexo, enfermedades de alto riesgo, ciertas comorbilidades y el embarazo.

Desde el inicio de la pandemia hasta la fecha de 3 Julio de 2023, se han notificado a la RENAVE 3.227.362 casos de COVID-19 en personas de 60 años o más; 681.927 hospitalizaciones, 56.249 ingresos en UCI y 121.852 defunciones. La letalidad es mayor en varones hospitalizados a partir de los 50 años.

El porcentaje de admisión en UCI en hospitalizados aumenta con la edad a partir de los 30 hasta los 70 años, momento en que empieza a disminuir. Desde Marzo de 2021 se observa un mayor porcentaje de ingresos en UCI en varones que en las mujeres a partir de 10 años.²²

Desde el 28 de Marzo de 2022 (séptimo periodo) se han notificado 130.524 hospitalizaciones (10,3% de los casos diagnosticados), porcentaje menor que en los periodos previos. Además, la proporción de ingresos en UCI ha sido de 0,5% y de defunciones de un 1,3%, también inferiores al periodo anterior.

Las hospitalizaciones en estos momentos ocurren predominantemente en mayores de 90 años (22%) y en el grupo de 80 a 89 años (16,2%), con una letalidad del 4,8% en los mayores de 89 años ²².

Aunque la vacunación frente a la COVID-19 no elimina el riesgo de infección por SARS-CoV-2, reduce significativamente el riesgo de morbilidad y mortalidad relacionadas con la COVID-19, particularmente en aquellas personas que tienen un alto riesgo de progresar a una enfermedad grave.

3.1.4.— INFECCION POR SARS CoV-2: COVID-19

3.1.4.1. -TRANSMISION

El síndrome respiratorio agudo severo por SARS CoV-2 se transmite de persona a persona. La variabilidad del SARS CoV-2 sugiere que es posible la transmisión por aerosoles y fómites ²³

La mayor parte ocurre por exposición a fluidos respiratorios a través de aerosoles y depósito de las mismas en mucosas expuestas como la nariz, la boca o los ojos. También por contacto directo a través de las manos contaminadas previamente ²⁴.

El SARS CoV-2 puede ser transmitido por individuos asintomáticos y presintomáticos ²⁰. La excreción de los virus se produce 2-3 días antes del inicio de los síntomas, siendo la carga viral máxima al inicio de los mismos. La tasa de infección de personas verdaderamente asintomáticas es desconocida. Una revisión sistemática sobre este tema sugirió que la verdadera infección asintomática probablemente sea poco común. ¹⁹

Tras la resolución de los síntomas, el ARN viral puede persistir detectable en las pruebas de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) de nasofaringe hasta 6 semanas después del inicio del cuadro, pero los cultivos virales típicamente son negativos a partir del 8º día tras el inicio de los síntomas. Esto está respaldado por estudios que han demostrado que la transmisión no ocurrió en contactos con exposición al caso índice de más de 5 días desde el inicio de los síntomas ¹⁹. En 2020 la recomendación para pacientes infectados era aislamiento al menos durante 10 días desde el inicio de los síntomas y 3 días después de la mejoría de éstos. En estos momentos la recomendación para pacientes COVID positivos asintomáticos o leves es aislarse al menos 5 días, pero se recomienda el uso de una mascarilla hasta el día 10. Los pacientes con COVID moderada

o grave deben aislarse durante 10 días. Y los pacientes con inmunosupresión moderada o grave deben aislarse al menos hasta el día 20. ²⁵

Actualmente siguen existiendo dudas sobre la transmisibilidad en determinados grupos específicos como los pacientes inmunodeprimidos o los pacientes en estado crítico, en los que puede existir un retraso en la resolución de los síntomas con unas replicaciones virales persistentes ²⁶

Se han descrito casos de transmisión vertical del SARS CoV-2 pero actualmente se cree que el COVID-19 materno está asociado con un bajo riesgo de transmisión vertical ²⁷ En la mayoría de las series publicadas, la infección de las madres por SARS CoV-2 ocurrió en el tercer trimestre del embarazo, sin muertes maternas y con evolución favorable en los neonatos ²⁸.

3.1.4.2.- PATOGENIA

Desde el punto de vista patogénico, se postula que el SARS-CoV-2 penetra en el organismo a través de las mucosas nasal y faríngea y llega a los pulmones. Desde ellos, pasa al torrente sanguíneo pudiendo afectar a los diferentes órganos. El mecanismo de diseminación extrapulmonar aún no está del todo claro.

La ACE-2 es un receptor esencial para la entrada celular del SARS-CoV-2, pero precisa de proteasas presentes en la célula huésped como TMPRSS2 para promover la captación viral y la activación de la proteína S del SARS CoV-2, así como la escisión del receptor de la ACE 2, permitiendo la entrada del coronavirus en la célula huésped ¹⁹. Las células que pueden expresar el receptor ACE2 y/o TMPRSS2, además de las células epiteliales alveolares tipo II, son las células endoteliales vasculares, podocitos, túbulos

proximales renales, miocitos cardiacos y células del tracto gastrointestinal y células beta pancreáticas.²⁹

La enzima ACE-2 es una carboxipeptidasa que degrada principalmente la angiotensina (AT) 2, aunque también degrada otros sustratos como la B1-bradicinina o la apelina con menor afinidad³⁰. La ACE-2 suprime el sistema renina angiotensina (RAS, de sus siglas en ingles), que es un sistema compuesto por una cascada de péptidos reguladores que participan en procesos fisiológicos clave del organismo, que incluyen el equilibrio hidroelectrolítico, la regulación de la presión arterial, la permeabilidad vascular y el crecimiento tisular²⁹. Por lo tanto, la ACE-2 y el sistema RAS participan y son reguladores críticos de la fisiología y patología cardiovascular y renal.³¹

La disfunción del RAS está relacionada con el desarrollo de lesión pulmonar aguda y con el síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) secundarios a neumonías, aspiración o sepsis virales y no virales, ya que, en condiciones normales, la enzima ACE-2 regula negativamente el sistema RAS, catalizando, además de otras acciones, la transformación de AT 2 en AT 1-7³⁰. Estos productos finales tienen efectos vasodilatadores, anti-proliferativos, anti-fibróticos, anti-inflamatorios, favorecen la natriuresis^{30,32} y reducen el crecimiento del músculo liso tras una lesión vascular³²

La infección por SARS CoV-2 regula de manera negativa la expresión de ACE-2, resultando en una inclinación del equilibrio homeostático del sistema renina angiotensina a favor del eje AT 2³³, aumentando de esta manera la concentración de AT 2 por falta de degradación y disminuyendo la concentración de AT 1-7. Este proceso favorece la generación de péptidos con efecto vasoconstrictor como la aldosterona, la vasopresina y la hormona adrenocorticotropa (ACTH), la inflamación, la reabsorción de sodio, la proliferación celular y la lesión pulmonar³². A nivel pulmonar se traduce en

vasoconstricción pulmonar en respuesta a la hipoxia, aumento de la permeabilidad vascular e inicio de un proceso inflamatorio con liberación de citoquinas que pueden desencadenar el síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA)^{31 30 34,35}

En los modelos de SDRA, los ratones knockout para ACE-2 mostraron síntomas más graves de esta enfermedad en comparación con los ratones de tipo salvaje ³⁴

Por tanto, la desregulación de los sistemas renina angiotensina aldosterona (SRAA) y ACE-2 pueden considerarse como uno de los mecanismos fisiopatológicos que pueden contribuir al daño tisular relacionado con la infección por SARS Cov-2. ^{36 29}

Además de la alteración del SRAA, otros mecanismos clave que pueden tener un papel importante en la fisiopatología de la COVID-19 son la toxicidad viral directa, el daño de las células endoteliales, la trombo-inflamación y la desregulación del sistema inmune ²⁹

Las células epiteliales nasales y bronquiales, así como los neumocitos, se afectan en etapas tempranas de la infección. Al igual que en otras infecciones, se desencadena una activación del sistema inmune que se caracteriza por una destrucción de células T que da lugar a una linfopenia de células T y liberación de citoquinas inflamatorias. ²⁰

En las etapas siguientes, la replicación viral se ve incrementada y se produce un compromiso de la barrera epitelio-endotelial. El virus puede causar daño directo e indirecto de las células endoteliales, dando como resultado una endotelitis, un engrosamiento difuso de la pared alveolar con infiltración de neutrófilos y macrófagos, aumento de la permeabilidad vascular, activación de complemento y aumento de la síntesis de trombina ¹⁹. Esto se traduce en el depósito de microtrombos y una disfunción microvascular. En este apartado las trampas extracelulares de neutrófilos (NETs) contribuyen al daño endotelial y a una activación de las vías de la coagulación. ³⁷

En un porcentaje de pacientes la desregulación del sistema inmune se incrementa y se produce la denominada tormenta de citoquinas, dando como resultado, a nivel pulmonar, una mayor infiltración de monocitos y neutrófilos, edema pulmonar con formación de membranas hialinas y finalmente síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA). La activación del sistema cinina-caliceína y de las vías de la coagulación contribuyen a la formación de microtrombos ^{20 29} y a una incidencia incrementada de eventos trombóticos, como el infarto de miocardio, isquemia de extremidades o accidente cerebrovascular.

Como última fase, puede desarrollarse una sepsis viral, disfunción orgánica secundaria a la respuesta desregulada del huésped a la infección, fallo multiorgánico y muerte.

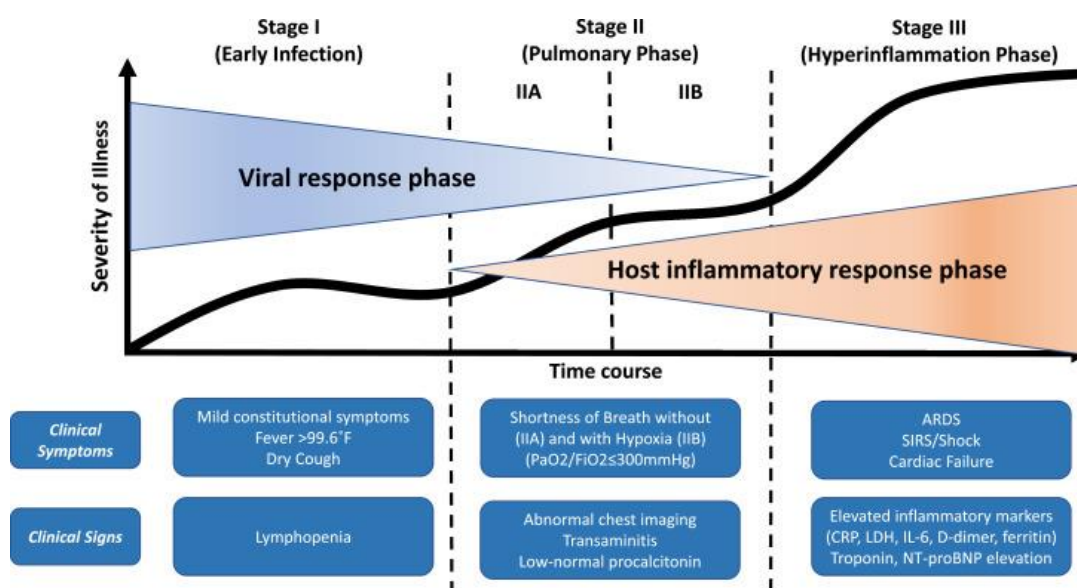


Figura 6. Fases de la progresión de la enfermedad por COVID-19. ARDS, Síndrome de dificultad respiratoria aguda, de sus siglas en inglés; LDH, lactato deshidrogenasa; CRP, Proteína C reactiva; SIRS. Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica; NT-proBNP, propéptido natriurético tipo B N-terminal. ³⁸

3.1.4.3.- PRESENTACION CLINICA

El curso clínico de la enfermedad se ve afectado por la capacidad diagnóstica y de vigilancia en distintos momentos de la epidemia. Tras la fase de incubación, el 80%

de los pacientes desarrolla un cuadro paucisintomático o incluso asintomático. En un estudio de 44.672 pacientes con COVID-19 en China, el 81% de los casos tuvieron sintomatología leve o moderada, el 14% tuvieron un curso clínico grave y el 5% presentaron un curso crítico (insuficiencia respiratoria, shock séptico y/o fallo multiorgánico).³⁹ Un estudio del Reino Unido informó de hasta un 17,1% de ingresos en Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) ⁴⁰, siendo la tasa de mortalidad de los pacientes que ingresan en UCI entre un 26% y un 50% ⁴¹

Tras la incubación, ocurre la denominada FASE DE ACTIVIDAD o REPLICACION VIRAL. En esta fase suelen producirse síntomas constitucionales leves, afectación de vías respiratorias altas, fiebre, disnea, tos, mialgia y astenia, destacando la ausencia de gusto y olfato como un síntoma característico de las infecciones por las variedades Alfa-Delta o diarreas y afonía con la variante Ómicron. ^{20 42 43}

Los síntomas más frecuentes entre los pacientes hospitalizados fueron fiebre (hasta el 90%), tos seca (60-86%), disnea (53-80%), astenia (38%), náuseas / vómitos o diarreas (15-39%), y mialgia (15-44%) ⁴⁴. También se han publicado alteraciones olfativas y/o gustativas en el 64-80% de los pacientes ⁴⁵

El 20% restante evoluciona hacia la FASE INFLAMATORIA, en la que los pacientes desarrollan un cuadro clínico caracterizado por el desarrollo de neumonía intersticial bilateral fundamentalmente. ^{20 42 43}

Según la guía realizada por el National Institute of Health (NIH), los adultos con infección por SARS CoV-2 se pueden agrupar en las siguientes categorías de gravedad; los criterios para cada categoría pueden superponerse o cambiar con el tiempo ⁴⁶

- Infección asintomática o presintomática: Personas en las que se detecta SARS-CoV-2 utilizando una amplificación de ácidos nucleicos [NAAT] o una prueba antigénica, pero no tienen síntomas consistentes con COVID-19.
- Enfermedad leve: Pacientes que tienen cualquiera de los diversos signos y síntomas de COVID-19 (por ejemplo, fiebre, tos, dolor de garganta, malestar, dolor de cabeza, dolor muscular, náuseas, vómitos, diarrea, pérdida del gusto y el olfato), pero no tienen dificultad respiratoria, disnea o imágenes anormales en las pruebas de imagen torácicas.
- Enfermedad moderada: Pacientes que muestran evidencia de enfermedad de las vías respiratorias inferiores durante la evaluación clínica o en las pruebas de imagen y que tienen una saturación de oxígeno medida por oximetría de pulso (SpO_2) $\geq 94\%$, respirando aire ambiente.
- Enfermedad grave: Pacientes que tienen $SpO_2 < 94\%$ respirando aire ambiente, una relación entre la presión arterial parcial de oxígeno y la fracción de oxígeno inspirado (PaO_2/FiO_2) < 300 mm Hg, una frecuencia respiratoria > 30 respiraciones/min, o infiltrados pulmonares $> 50\%$ de los campos observados en la radiografía de tórax.
- Enfermedad crítica: Pacientes que tienen insuficiencia respiratoria, shock séptico y/o disfunción multiorgánica.

La OMS clasifica a los pacientes con enfermedad por COVID-19 en función de la gravedad de la siguiente manera: ⁴⁷

- COVID 19 CRITICO: Pacientes que cumplen criterios para SDRA, shock séptico, o cualquier otra condición que precise de tratamiento vasopresor o ventilación mecánica, invasiva o no, para el mantenimiento de la vida.
- COVID-19 GRAVE, definido por cualquiera de los siguientes
 - Saturación de Oxígeno < 90% en aire ambiente
 - Signos de neumonía
 - Signos de dificultad respiratoria grave en adultos, como el uso de musculatura accesorio, incapacidad para completar las frases o frecuencia respiratoria > 30 rpm.
- COVID-19 NO GRAVE: Ausencia de cualquier criterio para COVID-19 grave o crítico. En este grupo de pacientes hay que identificar a los pacientes con alto, moderado y bajo riesgo de hospitalización.
 - Pacientes con alto riesgo de hospitalización (6%): incluye a aquellos pacientes con inmunodeficiencias, sometidos a un trasplante de órgano sólido o que estén recibiendo tratamiento inmunosupresor
 - Pacientes con riesgo moderado (3%): son aquellos mayores de 65 años, con obesidad, diabetes o enfermedad cardiopulmonar crónica, enfermedad renal o hepática crónica, con cáncer activo, aquellos con discapacidades y con otras comorbilidades consideradas como enfermedad crónica.
 - Pacientes con bajo riesgo (0,5%): incluyen a aquellos pacientes que no presentan ni riesgo moderado ni alto.

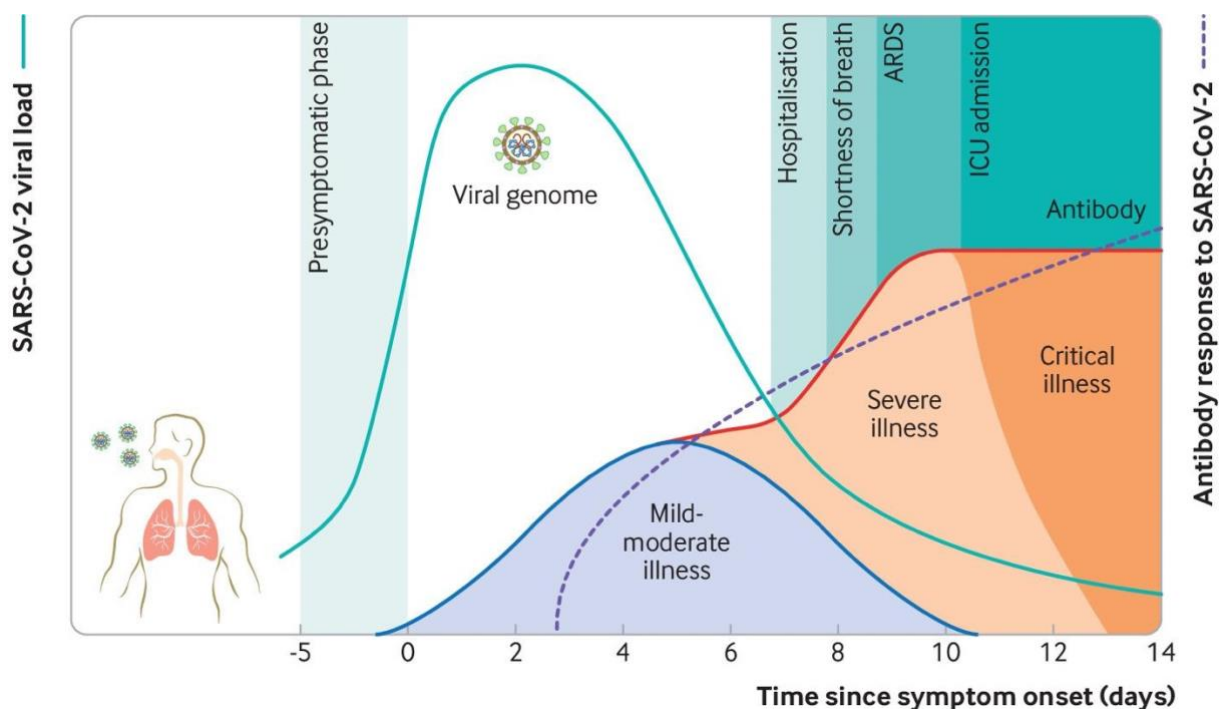


Figura 7. Después de la exposición inicial, los pacientes con COVID-19 suelen desarrollar síntomas dentro de 5 a 6 días (período de incubación). En pacientes con infección leve, la respuesta inmune inicial del huésped es capaz de controlar la infección. En la enfermedad grave, una respuesta inmune excesiva provoca daño orgánico, ingreso a cuidados intensivos o la muerte. La carga viral alcanza su punto máximo en la primera semana de infección, disminuye gradualmente a partir de entonces, mientras que la respuesta de anticuerpos aumenta gradualmente y a menudo es detectable hacia el día 14.¹⁷

3.1.4.4.- COMPLICACIONES.

Aunque el SARS CoV-2 puede afectar a múltiples órganos y aparatos debido a la amplia distribución del receptor de la ACE2, durante las fases iniciales de la infección la clínica se centra en el aparato respiratorio fundamentalmente y por ello el diagnóstico de la COVID-19 se base en la detección de ARN en exudado nasofaríngeo u orofaríngeo⁴⁸

Entre las complicaciones más comunes en los pacientes hospitalizados se incluyen la neumonía (75%), SDRA (15%), complicaciones cardiovasculares, insuficiencia renal aguda, afectación gastrointestinal y daño hepático agudo, alteraciones hematológicas, coagulopatía y trombosis vascular, alteraciones endocrinológicas, neurológicas, oftalmológicas, nasales y dermatológicas^{29,48}.

Aproximadamente el 5% de los pacientes con COVID-19 y el 20% de los hospitalizados experimentarán síntomas graves que requerirán ingreso en UCI.

- Al tener predominantemente tropismo pulmonar, el virus SARS CoV-2 va a producir sobre todo **complicaciones pulmonares**, como la neumonía, y en casos más graves el síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA) o fallo respiratorio hipoxémico. Un meta-análisis comprobó que, del 18% de pacientes hospitalizados que presentaban un COVID-19 grave, el 15 % desarrollo SDRA ⁴⁹.

En los casos graves y críticos, el tiempo entre el inicio de la enfermedad hasta que se presenta disnea es de 5 días, 7 días para precisar hospitalización y 8 días entre el inicio de la enfermedad y la presentación de SDRA. ⁵⁰

El SDRA producido por SARS CoV-2 tiene una mortalidad muy alta, más que incluso otras causas de SDRA; oscila entre el 26 y el 51% en aquellos pacientes que son admitidos en las Unidades de Cuidados Intensivos, llegando a un 66-94% en aquellos que recibían ventilación mecánica ⁵¹.

- Entre las **complicaciones cardíacas** se incluyen alteraciones exclusivamente analíticas (elevación de troponina) o manifestaciones clínicas, como la isquemia e infarto de miocardio, que se observó en el 20-30% de los pacientes hospitalizados, ascendiendo a 55% en los pacientes con cardiopatía preexistente; arritmias (17% de los hospitalizados y hasta un 44% en pacientes ingresados en UCI), insuficiencia cardíaca aguda, miocarditis, miocardiopatía y shock cardiogénico.

En una cohorte multicéntrica de la ciudad de Nueva York, el 6 % de 4250 pacientes con COVID-19 tenían QTc prolongado (QT corregido; >500 ms) en el momento del ingreso.⁵²

Una proporción importante de pacientes pueden mostrar signos de **afectación renal**. La insuficiencia renal aguda (IRA) es una complicación frecuente de la COVID en hospitalizados y se asocia a mayor mortalidad ⁵³. La incidencia de IRA oscila entre el 10 y el 80% en pacientes hospitalizados ⁵⁴, siendo las tasas mucho más altas en pacientes críticos, oscilando entre el 78 y el 90% ⁵⁵. La elevación de la creatinina y la proteinuria son las principales características clínicas. Los mecanismos que producen fallo renal son múltiples: estado hiperinflamatorio, coagulopatía, perfusión renal insuficiente por cambios hemodinámicos y toxicidad farmacológica. ⁴⁸

- La incidencia de los **síntomas gastrointestinales** oscila entre un 12 y un 61% de pacientes, y se han asociado a una mayor duración de la enfermedad, pero no a mayor mortalidad ⁵⁶. Según un meta-análisis chino los síntomas gastrointestinales consisten en anorexia (21%), náuseas y/o vómitos (7%), diarrea (9%) y dolor abdominal (3%) ⁵⁶. En un estudio realizado en los EE.UU., la prevalencia de estos síntomas fue mayor (diarrea, 33,7%; anorexia, 34,8%; y náuseas, 26%) ⁵⁷. Rara vez se ha observado hemorragia gastrointestinal. En los pacientes con COVID-19 grave o crítico se puede observar lesión hepatocelular (entre el 14-53% de los pacientes hospitalizados). Las aminotransferasas suelen estar elevadas, pero habitualmente por debajo de cinco veces el límite superior de la normalidad. En raras ocasiones se ha notificado una hepatitis aguda grave ⁵⁸.
- Los pacientes con COVID-19 pueden presentar varias **anormalidades de laboratorio**, diferentes a las previamente señaladas. La linfopenia es un marcador de alteración de la inmunidad celular que se ha observado en el 67-90% de los pacientes con COVID-19 y se ha asociado con peor pronóstico de la infección por

SARS CoV-2 ⁵⁹. La neutrofilia, aunque se observa con menos frecuencia, también es un factor pronóstico negativo.⁵¹ La trombocitopenia, que se observa en el 5-36% de los ingresos, aunque suele ser leve, también se asocia con peor pronóstico

60

- La **coagulopatía** es otra característica de los pacientes con COVID-19. En los pacientes hospitalizados es uno de los factores pronósticos más significativos y se asocia a una mayor mortalidad e ingreso en UCI. Según el estudio de Tang y colaboradores, las alteraciones analíticas más frecuentes entre los pacientes de su estudio con neumonía por SARS CoV-2 que no sobrevivieron fueron el tiempo de protrombina prolongado, incrementos de las concentraciones plasmáticas de dímero D y/o niveles reducidos de fibrinógeno ⁶¹. Algunos pacientes cumplen criterios de coagulopatía intravascular diseminada (CID), que se asocia a la mayoría de las muertes en pacientes con neumonía por SARS CoV-2. ^{37 61} Alrededor de un 60% de los pacientes ingresados en UCI tenían niveles de dímeros D elevados en comparación con el 43% de pacientes no graves ⁶²
- Las **complicaciones trombóticas** son muy frecuentes en los pacientes con COVID-19, llegando a ser de un 31% en aquellos ingresados en UCI. La COVID-19 supone también un mayor riesgo para los pacientes con factores predisponentes para enfermedad tromboembólica, como los inmovilizados, portadores de coagulopatía previa o presencia de estado inflamatorio agudo o hipoxia. Entre estas complicaciones trombóticas se incluyen la embolia pulmonar (EP), la trombosis venosa profunda (TVP) y la CID ⁶³.
- Los pacientes con trastornos endocrinológicos de base, como la diabetes mellitus o la obesidad, pueden estar predispuestos a presentaciones más graves de la

COVID-19. Adicionalmente, existe una variedad de **manifestaciones endocrinológicas** que pueden presentar los pacientes sin enfermedades preexistentes como la hiperglucemia, cetosis euglucémica y cetoacidosis diabética clásica. En un estudio retrospectivo chino de 658 pacientes hospitalizados, el 6,4% presentó cetosis en ausencia de fiebre o diarreas. De ellos, hasta un 64% no tenían diabetes mellitus subyacente conocida ⁶⁴.

- Se han observado múltiples **manifestaciones neurológicas**, con una prevalencia del 36% ⁶⁵. Los pacientes con COVID-19 grave tienen más probabilidad de presentar síntomas neurológicos que aquellos con formas leves. Cefaleas, mialgias, mareo y fatiga son los síntomas inespecíficos más frecuentes. En una serie retrospectiva de pacientes hospitalizados en Wuhan se describió afectación neurológica central en un 24,8%, periférica en un 10,7% y musculoesquelética en un 10,7% ⁶⁵. Entre los pacientes hospitalizados se describen dolor de cabeza (8-42%), mareo (12%), mialgia y/o fatiga (11-44%), anorexia (40%), anosmia (5%), ageusia (5%) ⁶⁶, y otras presentaciones más graves como confusión o alteración del nivel de conciencia (8-9%) y accidente cerebrovascular agudo (6% de los pacientes graves) ⁶⁷. Los síntomas pueden variar en pacientes ambulatorios con clínica más leve ⁴⁵. Otros cuadros descritos son polineuropatía desmielinizante inflamatoria aguda (síndrome de Guillain-Barre)⁶⁸, meningoencefalitis, síndrome de encefalopatía posterior reversible hemorrágica y encefalopatía necrotizante aguda ⁶⁹. Aunque con menos frecuencia que las manifestaciones respiratorias, las complicaciones neurológicas también se han asociado a discapacidad y mortalidad

- Desde el punto de vista **oftalmológico** se han descrito desde congestión conjuntival aislada hasta afectación retiniana ⁷⁰.
- Las **manifestaciones cutáneas** se presentan en un 20% de los pacientes con COVID-19 ⁷¹. En una revisión sistemática de 46 estudios se detectó que los hallazgos cutáneos más frecuentes fueron las lesiones acrales tipo sabañón o perniosis ⁷². Otras lesiones descritas son las erupciones maculopapulares, seguidas por lesiones tipo vesicular y lesiones livedoides y/o necróticas, cuya fisiopatología es inflamatoria, u otras como las vasculitis purpúricas, que siguen una patogenia vasculítica o vasculopática ²⁹.

El 44% de los pacientes presentaron estas manifestaciones al inicio de la enfermedad, mientras que la otra mitad las desarrollaron durante el curso de la misma. La mayoría de las lesiones cutáneas se resuelven solas y no parecen estar relacionadas con la gravedad de la enfermedad. Las lesiones livedoides y/o necróticas sí se asociaron con COVID-19 más grave ⁷³.

- **Otras complicaciones** incluyen ^{29,41,48}:
 - Coinfección bacteriana y por otros virus.
 - Síndrome Inflamatorio multisistémico (MIS).
 - Síndromes posteriores al ingreso en UCI.
 - COVID prolongado o Long Covid.
 - Complicaciones reproductivas.

La coinfección bacteriana se detecta hasta en un 7% y la coinfección viral en un 3% de pacientes hospitalizados con COVID-19 ⁷⁴. En un metaanálisis de 28 estudios con

3448 pacientes con COVID-19, se identificó una coinfección bacteriana en el 3,5 % y una infección bacteriana secundaria en el 15,5 % de los pacientes. A pesar de que estas proporciones son bajas, hasta el 72% de los pacientes son tratados con antibióticos de amplio espectro ⁷⁵. Los patógenos más frecuentes fueron especies de *Mycoplasma*, *Haemophilus influenzae* y *Pseudomonas aeruginosa* ⁷⁶. Los virus más frecuentes fueron el *virus respiratorio sincitial (VRS)* y el *virus Influenzae A* ⁷⁴.

También se han descrito coinfecciones por hongos como *Aspergillus flavus*, *Candida glabrata* y *Candida Albicans* ⁷⁷, sobre todo en pacientes críticos ⁷⁸; y también algunos casos de coinfección por *M. tuberculosis* ⁷⁹, aunque en este último caso lo más frecuente es la reactivación secundaria a tratamientos con glucocorticoides e inmunomoduladores⁸⁰.

Existen informes de casos de reactivación de infecciones crónicas subyacentes como el *virus de la hepatitis B* ⁸¹, virus del herpes simple o varicela zoster ⁸²; y casos de estrongiloidiasis grave y diseminada en relación a tratamientos inmunomoduladores

⁸³

Como complicaciones infecciosas de los pacientes con COVID-19 también pueden observarse infecciones nosocomiales, como la neumonía, incluida la asociada a ventilación mecánica, la bacteriemia o fungemia relacionada con catéter, infecciones del tracto urinario asociada a catéteres y diarreas por *Clostridium difficile* ⁴².

El síndrome inflamatorio multisistémico (MIS) es una afectación rara y grave, que puede afectar a niños (MIS-C) o adultos (MIS-A), pero es más frecuente en los primeros. Puede desarrollarse días o semanas después de la infección COVID-19 ⁸⁴.

Los pacientes que requieren ingreso en UCI pueden experimentar el denominado síndrome posterior al ingreso en la UCI o *Post-Intensive Care Syndrome* (PIC), de sus

siglas en inglés) ⁸⁵, que incluye polineuropatía y/o miopatía (debilidad o atrofia musculares) ⁸⁶, disfunción cognitiva (deterioro de la memoria, de función ejecutiva o de comunicación) y alteración psicológica (trastorno de estrés postraumático, depresión y ansiedad) ⁸⁷.

El termino *Long COVID* o COVID prolongado en un sentido amplio se concibe como la falta de resolución de los síntomas cuatro semanas después de la enfermedad aguda. Se desconoce su prevalencia exacta, pero se estima que oscila entre el 5 al 30%. Puede incluir síntomas persistentes o recurrentes, así como signos y síntomas de nueva aparición después de una infección asintomática o de la mejoría o remisión de síntomas agudos. No hay prueba de laboratorio que permita distinguir definitivamente el COVID prolongado de otras afecciones con etiologías diferentes ⁸⁸.

En cuanto a las complicaciones de órganos reproductores, se ha observado que los pacientes con COVID-19 presentaban niveles de hormonas sexuales alterados de tal manera que las concentraciones séricas de gonadotropinas LH y FSH se encontraban elevadas, mientras que las de testosterona y dihidrotestosterona estaban notablemente disminuidas. Existe una notable expresión de ACE2 y de TMPRSS2 en los tejidos del testículo, lo que hace que sean un objetivo potencial de la infección por SARS CoV-2. Se desconoce el grado de daño que pueden provocar a nivel testicular con la posibilidad de llegar a producir infertilidad ⁸⁹. En las mujeres con COVID-19 se han descrito irregularidades en el ciclo menstrual ⁹⁰.

3.1.5. – DIAGNOSTICO DE LA INFECCION POR SARS CoV-2

El diagnóstico se basa en la presencia de manifestaciones clínicas, sobre todo respiratorias, alteraciones analíticas y gasométricas y cambios en las pruebas de imagen torácicas, junto a la confirmación de la etiología gracias a la detección microbiológica del SARS CoV-2 (prueba de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT, de sus siglas en inglés) mediante *real time reverse transcription polymerase chain reaction* (rRT-PCR) o una prueba rápida de antígeno) en el exudado nasofaríngeo o en secreciones respiratorias de otro origen.

3.1.5.1.-PRUEBA DE AMPLIFICACION DE ACIDOS NUCLEICOS (NAAT)

La NAAT es actualmente la prueba de elección para la detección del SARS CoV-2. Con una NAAT positiva se confirma el diagnóstico; sin embargo, una NAAT negativa no descarta la infección ⁹¹. Pueden producirse falsos negativos desde un 20 hasta un 67% de los pacientes, dependiendo de la calidad y del momento en que se obtenga la muestra

20

Por otro lado, las NAAT pueden detectar ARN viral de muestras obtenidas semanas o meses después de la aparición de los síntomas. Sin embargo, la capacidad de recuperar virus replicativo en pacientes con enfermedad leve más allá de 10 días del inicio de los síntomas o más de 20 días en pacientes con enfermedad grave, es muy baja ^{92,93}.

Lo anterior indica que hay situaciones en las que, teniendo NAAT positivas, necesitamos datos comparativos de la secuencia viral para diferenciar entre la presencia de fragmentos virales y una reinfección. En este sentido puede ayudar la determinación

del valor del umbral del ciclo (Ct). El valor del Ct es el número de ciclos de PCR en los que el ácido nucleico diana de la muestra se vuelve detectable y nos permite estimar la carga viral, siendo inversamente proporcional a la misma. Sin embargo, esta técnica no está validada dado que sus resultados pueden verse alterados por muchos factores (entre ellos, la mala colección de las muestras), y por tanto su uso debe interpretarse con cautela ⁴².

3.1.5.2.-PRUEBA DE DETECCION DE PROTEINAS O ANTIGENOS VIRALES

Las pruebas rápidas de detección de proteínas virales (o antígenos -Ag-) en secreciones respiratorias mediante inmunoensayos de flujo lateral ofrecen un método rápido y menos costoso para detectar el SARS CoV-2. Son menos sensibles que la NAAT sobre todo en pacientes asintomáticos, con una sensibilidad menor o igual al 70%, pero que se incrementa con la repetición de la prueba y tras el inicio de los síntomas, momento en el que la carga viral es más alta. Presenta una alta especificidad, cercana al 100% ⁹⁴. Si el resultado es positivo no se recomienda NAAT de confirmación, salvo para pacientes con baja probabilidad previa a la prueba. En caso de ser negativas, no se realizará NAAT de confirmación si la probabilidad previa a la prueba es baja. Los pacientes con prueba de antígenos negativas y NAAT positiva indican infección por SARS CoV-2 ⁹⁵.

a) Colección de las muestras

Las muestras para realizar la NAAT y la prueba rápida de antígenos se obtienen de las vías respiratorias superiores (hisopos de faringe o cornetes). Los hisopos

nasofaríngeos parecen más sensibles que los orofaríngeos. Los hisopos combinados de nasofaringe y orofaringe aumentan la sensibilidad.

La obtención de muestras del tracto respiratorio inferior se recomienda en pacientes con muestra negativa de las vías respiratorias superiores con fuerte sospecha clínica de infección por SARS CoV-2. Estas muestras incluyen esputo (si se produce espontáneamente) y/o aspirado endotraqueal o lavado broncoalveolar en pacientes con enfermedad más grave⁹⁶.

Las muestras deben de recogerse tan pronto como sea posible una vez sospechada la enfermedad. Es muy importante saber la técnica adecuada de recogida de las muestras según las recomendaciones del laboratorio, ya que en caso contrario puede dar lugar a resultados falsos negativos o no concluyentes. En la página de la CDC se dan algunas directrices de cómo llevarlo a cabo⁹⁷.

b) Indicaciones

Las NAAT y la detección de Ag se recomiendan en personas sintomáticas en los que se sospeche COVID-19, aunque la sospecha clínica sea baja. También se recomiendan en personas asintomáticas inmunodeprimidas o personas que hayan tenido contacto estrecho con algún enfermo con COVID-19 y antes de la hospitalización en áreas de alta prevalencia de COVID-19. Las personas con pauta de vacunación completa deben de hacerse también la prueba si presentan síntomas de COVID19^{96,98}.

3.1.5.3.-PRUEBAS SEROLOGICAS

No se recomiendan las pruebas serológicas para el diagnóstico de la infección aguda por SARS-CoV-2 o durante las primeras 2 semanas después del inicio de los

síntomas; tampoco debe utilizarse como prueba de diagnóstico independiente para el rastreo de contactos ⁹⁹.

Se prefieren las pruebas serológicas con una sensibilidad y especificidad muy altas, ya que es más probable que presenten valores predictivos positivos y negativos altos. Los niveles de anticuerpos tipo inmunoglobulina -Ig- G disminuyen más lentamente que los de otras inmunoglobulinas, por lo que los ensayos que miden los anticuerpos totales o Ig G podrían tener una sensibilidad mayor. La persistencia de anti-SARS CoV-2 tipo IgM suele ser más breve que la de isotipo IgG, lo que podría sugerir una infección relativamente reciente ¹⁰⁰.

Los anticuerpos son detectables a partir del 7º al 14º día desde el inicio de los síntomas; a las 3 semanas la mayoría de los pacientes dará positivo en las pruebas serológicas. En este intervalo disminuye la sensibilidad de las pruebas moleculares o de detección de antígeno y aumenta la sensibilidad de las pruebas serológicas. Se pueden considerar las pruebas serológicas en serie, en la fase aguda y 2-4 semanas después en pacientes con NAAT negativa, pero con sospecha clínica de COVID-19 o en pacientes que presentan complicaciones sugestivas de COVID-19 como el síndrome inflamatorio multisistémico, entre otros. ¹⁰¹

En personas no vacunadas, la detección de anticuerpos tipo IgG contra la nucleocápside (N), la proteína S o el dominio de unión al receptor (RBD) indica una infección natural previa. Pero en personas vacunadas la detección de anticuerpos tipo IgG positiva sólo contra la proteína S indica que el individuo está vacunado y que no ha ocurrido infección previa. La detección de anticuerpos frente a cualquier antígeno diferente al S indica una infección previa, que puede haber ocurrido antes o después de la vacunación. Una prueba serológica negativa no descarta infección previa ^{98,100}. En la

interpretación de las pruebas serológicas, hay que tener en cuenta la posibilidad de falsos negativos y positivos, la imposibilidad de desarrollo de anticuerpos detectables y la disminución de los mismos con el paso del tiempo ¹⁰⁰.

Tabla 1. Interpretación de los resultados de los anticuerpos anti -S y anti -N en función del estado de vacunación. ¹⁰⁰

Estado de vacunación	Anti-S anti-	Anti-N anti-N	Interpretación*
Vacunado	+	+	Vacunado y previamente infectado
Vacunado	+	-	Vacunado y no previamente infectado
No vacunado	+	+	No vacunado y previamente infectado
No vacunado	-	-	No previamente vacunado o infectado
desconocido	+	+	Previamente infectado, puede o no haber sido vacunado
desconocido	+	-	Vacunado sin infección previa
desconocido	-	-	No previamente vacunado o infectado

Actualmente no se recomienda la prueba de anticuerpos para determinar si alguien está actualmente infectado por SARS CoV-2, tampoco para evaluar la inmunidad después de la vacunación ni para evaluar la necesidad de vacunación en una persona no vacunada ¹⁰⁰. Las pruebas serológicas pueden usarse en estudios de seroprevalencia para estimar la incidencia acumulada de infección o vacunación en una comunidad.

Existe la posibilidad de obtener resultados negativos con cualquier prueba molecular que detecte SARS CoV-2 si se produce una mutación en la región del genoma evaluada por dicha prueba. Las mutaciones también pueden producir cambios en las proteínas virales lo que puede afectar a las pruebas de detección antigénica o serológicas

102.

3.1.5.4.- OTRAS PRUEBAS DE LABORATORIO Y ESTUDIOS DE IMAGEN

a) Laboratorio

- Otras pruebas de laboratorio deben incluir un recuento sanguíneo completo con perfil diferencial y estudio bioquímico sérico, incluidas las pruebas metabólicas, de función hepática y función renal.

En una revisión sistemática de 19 estudios de 2840 pacientes, de los que el 80% precisó hospitalización, se observaron como hallazgos típicos la elevación de la concentración sérica de proteína C reactiva (PCR) en más del 60% de los pacientes, de láctico-deshidrogenasa (LDH) en el 50-60%, de alanina aminotransferasa (ALT) en un 25% y de aspartato aminotransferasa (AST) en un 33%. Aproximadamente el 75% presentaba hipoalbuminemia ¹⁰³.

La anomalía hematológica más común en los pacientes con COVID-19 fue la linfopenia, detectada en el 83% de los pacientes (recuento absoluto de linfocitos menos de < 1000 células/ L)

La leucocitosis a expensas de neutrófilos es menos frecuente y también se asocia a un pronóstico negativo, así como la relación aumentada de neutrófilos-linfocitos (RNL). Un RNL alto es un factor de riesgo para determinar gravedad en el COVID-19

104.

Igualmente son importantes las pruebas de función hemostásica. Se detecta en pacientes hospitalizados graves, sobre todo, una elevación del dímero-D (43-60%), una prolongación del tiempo de protrombina (>5%), recuento de plaquetas bajo (30%) y/o concentración plasmática de fibrinógeno reducida.¹⁰⁵

Otros marcadores asociados a COVID-19 grave son la hiperferritinemia, la elevación de la velocidad de sedimentación globular, el aumento de fibrinógeno, de lactato deshidrogenasa y de Interleucina-6¹⁰⁶

Algunos estudios han subrayado que la elevación del dímero-D se han asociado con la mortalidad^{107 108 109}.

Ninguno de los hallazgos de laboratorio es lo suficientemente específico, y no son exclusivos de pacientes con COVID-19, ya que muchos de ellos podrían actuar de igual manera como medida del estado inflamatorio general de un paciente e indicador de gravedad en otras enfermedades, pudiendo ayudar más bien a detectar a aquellos pacientes que precisan de un seguimiento más estrecho¹¹⁰.

Estas alteraciones de laboratorio observadas se han considerado similares a las detectadas en el síndrome de linfocitosis hemofagocítica secundaria – activación macrofágica¹¹¹.

- En casos seleccionados, se recomienda la exclusión de otros patógenos respiratorios en personas con sospecha de infección respiratoria que precisa hospitalización o en pacientes ambulatorios si los resultados se traducirían en cambios en el manejo clínico, todo ello a juicio del médico responsable del paciente; entre ellos figuran los siguientes virus: *Influenza A y B*, *VRS*, *virus parainfluenzae*, *rinovirus*, *adenovirus*, *enterovirus*, *metapneumovirus humanos* y *coronavirus humanos* endémicos. Entre los patógenos bacterianos, se incluyen *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus*

influenzae, *Legionella pneumophila*, *Coxiella burnetti*, *Chlamydia psittaci* o *pneumoniae* y *Mycoplasma pneumoniae*.⁹⁶

Se recomienda la extracción de hemocultivos sobre todo antes del inicio de la terapia antimicrobiana¹¹².

- El estado de oxigenación, medido por gasometría arterial u oximetría de pulso, es muy importante y siempre debe interpretarse en el contexto de la presentación clínica de un paciente. Los signos y síntomas como, por ejemplo, disnea, taquipnea, cianosis, dolor torácico, cambios en la cognición o el estado de atención deben tener un peso igual de importante o más que el resultado de una oximetría de pulso.

b) Pruebas de imagen

Los hallazgos en las pruebas de imagen pueden ser normales en pacientes con COVID-19 durante la enfermedad temprana; así ocurre en aproximadamente el 40% de la radiografía de tórax y el 15% de la tomografía axial computarizada (TC) de tórax²⁰. Sin embargo, en caso de neumonía, las anomalías en dichas pruebas de imagen se desarrollarán rápidamente durante las primeras dos semanas después del inicio de los síntomas antes de desaparecer gradualmente.

Los hallazgos radiográficos patológicos pueden incluir infiltrados bilaterales, con predominio en lóbulos inferiores, y opacidades en vidrio esmerilado periféricas, difusas, bilaterales o consolidación¹¹³.

La ecografía pulmonar más la evaluación clínica pueden tener una alta sensibilidad y especificidad para diagnosticar neumonía por SARS-COV-2 en adultos que acuden al Servicio de Urgencias con síntomas de infección por SARS-COV-2¹¹⁴. Atendiendo a una revisión sistemática de estudios observacionales y a otros estudios

publicados posteriormente, se evaluaron los hallazgos ecográficos en pacientes con infección por SARS CoV-2. El denominado patrón B, definido como más o igual a la presencia de 3 líneas B en la región pulmonar, líneas B confluentes o apariencia de pulmón blanco, se produce en el 97% de los casos; consolidaciones subpleurales o pulmonar en el 39%, la línea pleural irregular en el 70%, o engrosada en el 54%, y derrame pleural en el 14% ^{114,115}.

En una revisión sistemática de 98 estudios que evaluaban el rendimiento de las pruebas de imagen torácicas (TAC de tórax, radiografía de tórax y ecografía pulmonar) para el diagnóstico de la COVID-19 en adultos y niños, se observó que, para el diagnóstico de neumonía, el TAC de tórax (69 estudios, 28.865 participantes) presentó una sensibilidad que varió del 86,9% (Intervalo de confianza (IC) 95%: 83,6%-89,6%) y una especificidad del 78,3% (IC 95%: 73,7%- 82,3%). Sin embargo, diagnosticó de COVID-19 de manera errónea al 21% de los participantes. Para la radiografía de tórax (17 estudios, 8.529 participantes) la sensibilidad fue del 73,1% (IC 95%: 64,1%-80,5%); y la especificidad del 73,3% (IC 95%: 61,9%-82,2%). Con esta técnica de imagen se diagnosticaron de manera errónea al 27% de participantes sin COVID-19. Para la ecografía pulmonar, la sensibilidad (15 estudios, 2.410 participantes) fue del 88,9% (IC95%: 84,9%-92,0%) y la especificidad del 72,2% (IC95%: 58,8%-82,5%). La ecografía pulmonar diagnosticó incorrectamente de COVID-19 al 24% de los participantes que no tenían COVID-19. Las comparaciones indirectas de las diferentes modalidades, en los 94 estudios, indicaron que el TAC de tórax y la ecografía tenían una sensibilidad similar siendo más alta que la radiografía de tórax. El TAC y la ecografía de tórax presentaron sensibilidades similares. Todas las modalidades mostraron especificidades similares. Sin

embargo, los autores resaltan la incertidumbre resultante del sesgo alto o incierto y la heterogeneidad de los estudios incluidos ¹¹⁶.

3.1.6. – PRONOSTICO y MORTALIDAD DE LA COVID-19

3.1.6.1.- PRONOSTICO

El pronóstico de la infección por COVID-19 puede variar considerablemente dependiendo de diversos factores. La mayoría de las personas infectadas experimentan síntomas leves a moderados y se recuperan por completo sin complicaciones graves. Aproximadamente el 17-35% de los pacientes hospitalizados son trasladados a una Unidad de Cuidados Intensivos, sobre todo por insuficiencia respiratoria hipoxémica. De ellos el 29-91% requerirán ventilación mecánica invasiva. Otras complicaciones graves que precisaran de vigilancia en UCI son fallo renal agudo (9%), fallo hepático agudo (19%), hemorragia y coagulopatía (10-25%) y shock séptico (6%) ¹¹⁷

Se han descrito grupos de mayor riesgo de desarrollo de formas más graves. Son factores de riesgo que pueden influir en el pronóstico el sexo masculino, el tabaquismo, la edad avanzada (personas mayores de 65 años), vida habitual en residencia de ancianos o en centros de cuidados, ausencia de vacunación contra SARS-CoV2 o de respuesta inmune a la misma, el embarazo y ciertas condiciones médicas crónicas preexistentes, como la hipertensión arterial (48-57%), enfermedades cardiovasculares (21-28%), enfermedad renal crónica (3-13%), diabetes mellitus con complicaciones (17-34%), enfermedades respiratorias crónicas (4-10%), neoplasia maligna (6-8%), trastornos neurocognitivos, obesidad o sobrepeso¹¹⁸. Aunque solo el 25% de los

pacientes infectados tienen comorbilidades, sí están presentes entre el 60-90% de los pacientes hospitalizados ¹¹⁹.

Estas comorbilidades se han asociado con un mayor riesgo de hospitalización o muerte relacionada con COVID-19 ¹²⁰.

Existen asimismo condiciones de alto riesgo de COVID-19 grave, que incluyen el cáncer, sobre todo neoplasias hematológicas y aquellas otras en tratamiento activo, fibrosis quística, inmunodeficiencias congénitas o adquiridas, enfermedad hepática (especialmente pacientes con cirrosis) y anemia de células falciformes. Los receptores de trasplantes y las personas en tratamiento con medicación inmunosupresora también tienen un mayor riesgo de COVID-19 grave y muerte ¹²¹.

Finalmente, las personas con algunos tipos de discapacidades pueden tener más probabilidades de desarrollar COVID-19 grave debido a la comorbilidad asociada, como en el caso del síndrome de Down, discapacidades que dificulten la realización de ciertas actividades, incluidas aquellas que necesitan ayuda con el cuidado personal o las actividades diarias ¹²².

El factor de riesgo no modificable más importante para desarrollo de enfermedad grave por COVID-19 es la edad avanzada, sobre todo a partir de 65 años ¹²³. El factor modificable clave para disminuir el riesgo de enfermedad grave es la vacunación ¹²⁴. La inmunosupresión puede atenuar la respuesta a la vacunación ¹²⁵.

La toma de decisiones clínicas iniciales incluye la evaluación del riesgo de cada paciente de precisar hospitalización ¹²⁶. En los pacientes hospitalizados, es fundamental determinar el riesgo a evolucionar a COVID-19 grave y muerte y así valorar la necesidad de diferentes intervenciones médicas incluido el ingreso en UCI. Para ello se han creado

diferentes escalas de mortalidad y de progresión clínica, dentro de las cuales las más importantes son:

➤ **ESCALAS PREDICTORAS DE MORTALIDAD**

- Puntuación QCOVID4, basado en un estudio de cohortes, puede ayudar a predecir el riesgo de ingreso y de muerte en pacientes con infección por SARS CoV-2. Usa factores como la edad, el sexo, la raza, nivel económico (según código postal), vacunación, COVID-19 previas, índice de masa corporal, institucionalización y comorbilidades ¹²⁷.
- El índice SEIMC COVID-19, basado en un estudio de cohortes, utiliza un total de 6 parámetros, clínicos (edad, sexo y presencia de disnea) y de laboratorio (relación neutrófilos-linfocitos, tasa de filtrado glomerular y la saturación de oxígeno ajustada por edad) ¹²⁸.
- Otras puntuaciones que pueden predecir la mortalidad son comunes a otros tipos de infección grave o neumonía, como puntuación 4C, PSI y CURB-65, SOFA, etc.

➤ **ESCALAS PREDICTORAS DE PROGRESION**

- Escala NEWS2 (*National Early Warning Score 2*), basado en un estudio de cohorte retrospectivo con posible sesgo de selección. Predice la posibilidad de ingreso en UCI durante los 7 días siguientes al ingreso. Valora la frecuencia respiratoria, la necesidad de oxígeno suplementario, la saturación de oxígeno, la insuficiencia respiratoria hipercápnica, la presión arterial sistólica, la frecuencia cardíaca, la temperatura y el nivel de consciencia. Un índice NEWS2 > 6 al ingreso se

considera un punto de corte adecuado para predecir el deterioro clínico. Presenta una sensibilidad del 67,8%, una especificidad del 79,1%, valor predictivo positivo (VPP) del 36,9% y negativo (VPN) del 92,4%. ^{129 130 131}

- CALL score. (de las siglas en inglés, *Comorbidity, Age, Lymphocyte, LDH*) Basado en un estudio de cohortes. Puede ayudar a predecir el riesgo de progresión a una enfermedad grave. Con un punto de corte > 6 puntos, la sensibilidad es del 95%, la especificidad del 78%, VPP del 50%, VPN del 98,5%. Consiste en un nomograma que relaciona la leucopenia ($< 1,0 \times 10^9/L$), la edad mayor de 60 años, la presencia de comorbilidades y las concentraciones de dímero D y LDH con el posible aumento del riesgo de agravarse la situación clínica de los pacientes con neumonía causada por COVID-19 ¹³². Las puntuaciones de 4-6 se incluirían dentro de la clase A o de bajo riesgo, con probabilidad de progresión menor del 10%. De 7 a 9 puntos se incluyen dentro de la clase B o riesgo intermedio, con una probabilidad de progresión del 10 al 40%; y de 10 a 13 puntos correspondería a una clase C, alto riesgo de progresión (mayor del 50%). ^{132,133}
- Nomograma de Wuhan, basado en un estudio de cohortes, con cohortes de derivación y validación independientes, podría ayudar a identificar de manera temprana a los pacientes que progresaran a COVID-19 grave. Este nomograma utiliza 7 factores de referencia asociados con la progresión a enfermedad grave, como son la edad, concentración sérica de lactato deshidrogenasa, proteína C reactiva, nitrógeno ureico, bilirrubina directa, albúmina y coeficiente de variación del ancho de distribución de los glóbulos rojos. La sensibilidad y especificidad fueron de 85% y 87% en las cohortes de derivación respectivamente, y de 77,5% y 78,4 % en las de validación ¹³⁴.

- Escala de predicción de ingreso en UCI desarrollada por el Registro SEMI-COVID-19, en la que los autores identifican una serie de variables demográficas, clínicas, radiológicas y de laboratorio entre las que destacan la gravedad de las comorbilidades del paciente, la edad, el RNL, el valor de la LDH o la presencia de infiltrados difusos en la radiografía de tórax. Una puntuación de más de 75 se asoció con una probabilidad de ingreso en UCI superior al 30%, mientras que una puntuación de menos de 50 redujo dicha probabilidad al 15%. ¹³⁵

Además de los factores de riesgo y las enfermedades subyacentes, la hipoxemia, medida a través de SpO₂, es un parámetro clave para definir las categorías de gravedad de la COVID 19 descritas previamente, siempre teniendo en cuenta que la oximetría de pulso tiene limitaciones importantes y puede verse afectada por la pigmentación de la piel, la temperatura, la laca de uñas, el tabaco, la mala circulación periférica, etc., por lo que, ante posibles dudas, tendremos que recurrir a la gasometría arterial para verificar el estado de oxigenación del paciente.

La relación SpO₂/FiO₂ se considera un posible sustituto de la relación entre la presión parcial de oxígeno y la fracción de oxígeno inspirado y un predictor del desarrollo de SDRA ¹³⁶. Se ha observado una buena relación entre SpO₂/FiO₂ y la relación entre la presión parcial de oxígeno arterial y la fracción de oxígeno inspirado (Pao₂/Fio₂) ¹³⁷.

Entre los biomarcadores, pueden influir en el pronóstico las alteraciones en las pruebas de la función hepática, pruebas de coagulación, elevaciones progresivas del dímero D y la troponina, marcadores inflamatorios como la concentración de la proteína C reactiva, ferritina y láctico deshidrogenasa ¹³⁸⁻¹⁴⁰, algunos de los cuales empleados en las escalas pronósticas previamente mencionadas.

Además, algunos estudios han revelado que enfermos con linfopenia y un alto recuento de neutrófilos en sangre al ingreso tienen más probabilidades de presentar un mal pronóstico, así como los pacientes que presentan una relación neutrófilos-linfocitos incrementada ^{141,142}.

3.1.6.2.- MORTALIDAD

Desde el inicio de la pandemia hasta el 5 de Julio de 2023, en España se han notificado 122.057 defunciones con COVID-19 ²².

La tasa de letalidad es aquella que se calcula a partir de los fallecimientos entre los casos confirmados y por tanto no sólo depende de la capacidad de detectar los casos confirmados que han fallecido, sino también de la capacidad de confirmar y detectar todos los casos de enfermedad. En una situación de emergencia como fue el inicio de la pandemia por COVID-19 esta investigación resultó inviable ¹⁴³.

En una cohorte china que incluyó a más de 44.000 personas, la tasa de letalidad fue del 2,3%. La edad fue un fuerte factor de riesgo de enfermedad grave, complicaciones y muerte, con una mortalidad del 14,8% entre los pacientes de más de 80 años ¹⁴⁴.

La tasa de letalidad asimismo fue elevada para los pacientes con comorbilidades. En la cohorte china, falleció el 10,5% de los que tenían enfermedades cardiovasculares, el 7,3% de los que tenían diabetes mellitus, el 6,3% de los que tenían enfermedades respiratorias crónicas y el 5,6% de los que tenían cáncer. ¹⁴⁴

La tasa de mortalidad, a diferencia de la tasa de letalidad, se calcula tomando como referencia a la población total. En pacientes con COVID-19 se ha estimado en el 0.3-2,3% en todos los enfermos, siendo del 10-23% para pacientes ingresados en el

hospital (más del 60%, para los mayores de 80 años) ¹¹⁹, de un 26-50% en pacientes ingresados en Unidad de Cuidados Intensivos y del 37-88% en pacientes que requieren ventilación mecánica u oxigenación por membrana extracorpórea (ECMO). Sin embargo, las tasas de mortalidad varían entre cohortes, lo que puede reflejar diferencias en las pruebas diagnósticas e identificación de los casos ²⁰.

Una revisión sistemática de 52 estudios encontró que los grupos minoritarios raciales y étnicos tenían un mayor riesgo de infección, hospitalización, diagnóstico confirmado y muerte. Algunos de los factores de riesgo que se enumeraban en dichos estudios eran el bajo nivel educativo, la pobreza, las malas condiciones de la vivienda, hogares superpoblados, etc. ¹⁴⁵.

A continuación, se muestran las gráficas de la OMS ² en las que se detalla la tendencia de las hospitalizaciones y la necesidad de ingreso en UCI desde el inicio de la pandemia hasta la fecha (Figura 8), así como los nuevos casos de COVID-19 y la mortalidad por esta causa (Figura 9). Ambas graficas deben de interpretarse con precaución, ya que no se incluyen todos los países existentes y la notificación de algunos países ha ido cambiando a lo largo del seguimiento

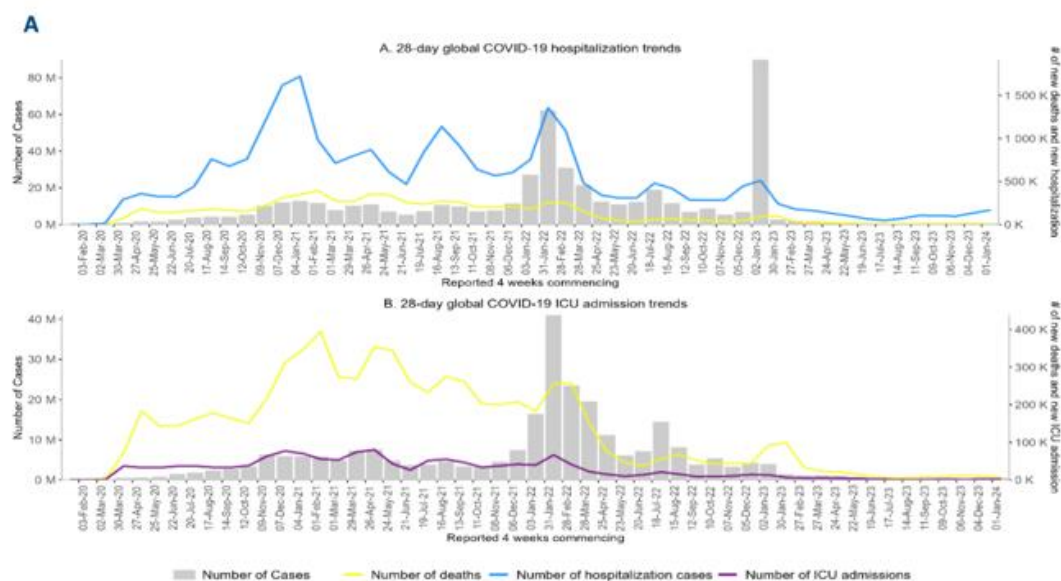


Figura 8. Hospitalizaciones e ingresos en UCI por intervalos de 28 días desde el 3 de febrero de 2020 hasta el 7 de enero de 2024. La ratio hospitalización-ingreso en UCI ha disminuido desde el pico de Julio de 2021 para mantenerse estable en los meses más recientes. Esto sugiere que cada vez una menor proporción de los pacientes que ingresan precisan UCI. De igual modo ocurre con la ratio hospitalización-muerte, que ha venido mostrando una reducción desde Julio de 2021, esto es, un menor riesgo de muerte entre las personas que precisan hospitalización

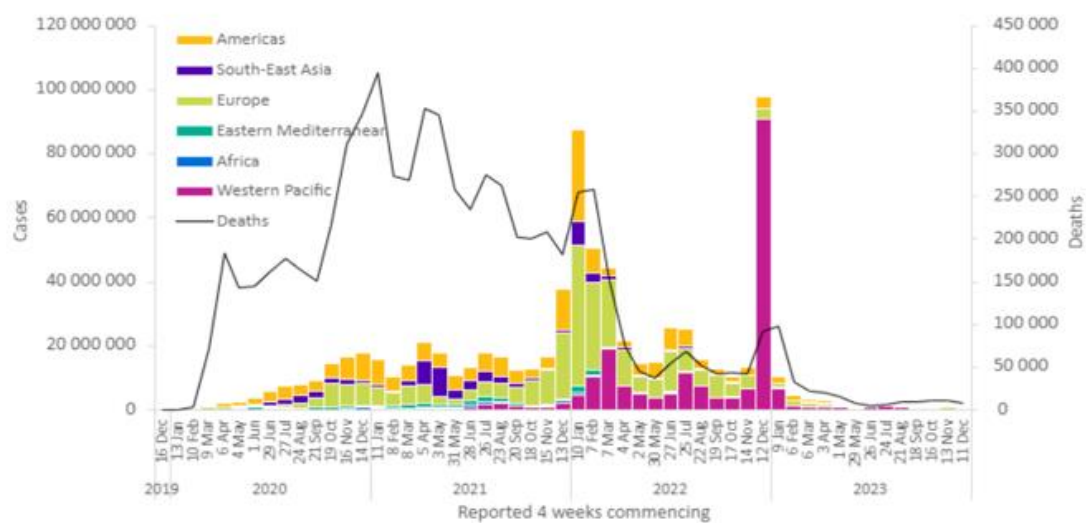


Figura 9. Casos de COVID-19 y muertes en diferentes regiones que han sido comunicados a la OMS por intervalos de 28 días desde el inicio de la pandemia hasta el 7 de enero de 2024. El número de casos por COVID ha disminuido en casi en todas las regiones representadas, salvo en el pacífico occidental y en el sudeste asiático. El número de muertes también ha disminuido salvo en las regiones del sudeste asiático, en las que se ha incrementado.

Los motivos de la disminución de la mortalidad y de las relaciones hospitalización-ingreso en UCI y hospitalización-mortalidad no se pueden extraer directamente de estos

datos, pero posiblemente se deba a la combinación de varias medidas como la vacunación, mejoras en las estrategias del diagnóstico y la atención clínica entre otras.

3.1.7.– EVOLUCION DE LOS DISTINTOS TRATAMIENTOS

Muchas terapias farmacológicas se han utilizado o se están considerando para el tratamiento de la COVID-19. Dada la rapidez de la literatura emergente, se identificó la necesidad de desarrollar directrices, frecuentemente actualizadas y basadas en la evidencia, para apoyar a los médicos y otros profesionales de la salud en la toma de decisiones sobre el tratamiento y el manejo de los pacientes con COVID-19 ¹⁴⁶.

La evolución de la enfermedad en dos fases (fase de respuesta viral y fase de respuesta inflamatoria) ayuda a considerar determinadas estrategias terapéuticas: tratamientos dirigidos frente al virus y tratamientos moduladores de la respuesta inflamatoria (Figura 10). Es muy probable que el momento del tratamiento y la selección de subgrupos de pacientes incluidos en los diferentes estudios tengan un efecto sobre los resultados de los mismos.

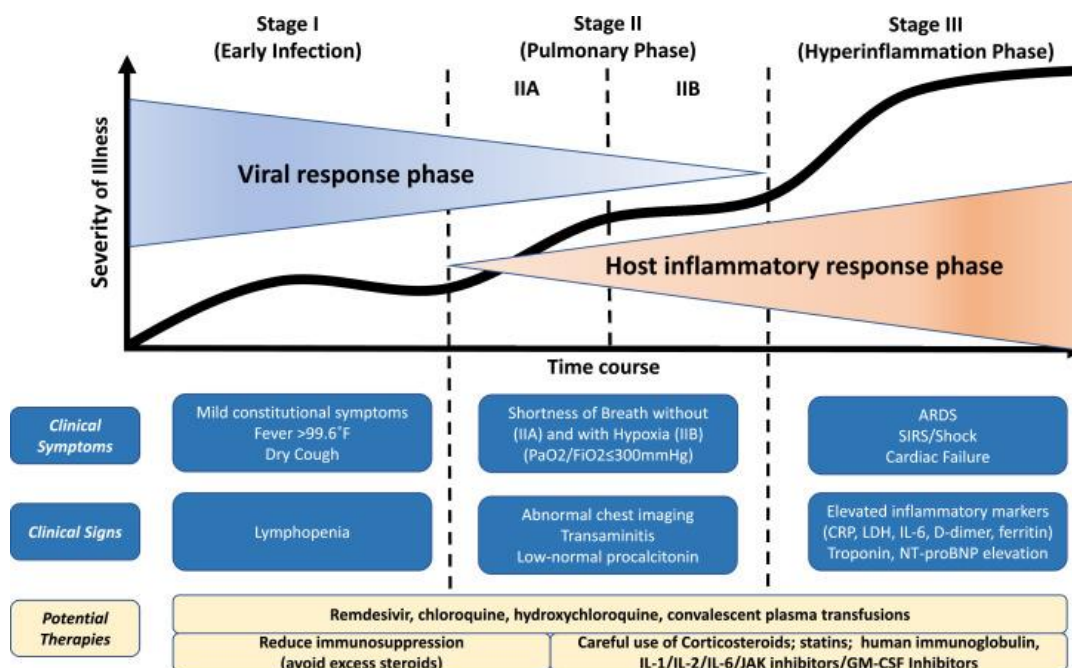


Figura 10. Tratamientos propuestos en función de las fases de respuesta viral e inflamatoria de la infección por SARS CoV-2 ³⁸

La mayoría de los estudios ha demostrado que un retraso en la aplicación del tratamiento antiinflamatorio cuando el paciente precisa soporte respiratorio puede influir negativamente en la evolución del paciente.

La toma de decisiones terapéuticas incluye la evaluación del riesgo de presentación de la COVID-19 como no grave, grave o crítica; y de la evaluación del entorno de atención adecuado, hospitalario –incluyendo UCI o planta no UCI- o ambulatorio.

En los pacientes con enfermedad leve (ausencia de neumonía viral e hipoxia) podría hacerse un manejo en ámbito ambulatorio. Los pacientes con síntomas como disnea, fiebre alta y/o letargo, sobre todo si se acompañan de hipoxia, pueden requerir hospitalización según las comorbilidades y el riesgo de progresión clínica. Las manifestaciones graves que requieren hospitalización incluyen neumonía, hipoxemia, SDRA, sepsis y shock séptico, miocardiopatía, arritmia y lesión renal aguda ⁴¹.

Otro de los puntos a tener en cuenta a la hora de seleccionar el tratamiento son las variantes del SARS CoV-2 circulantes, así como la disponibilidad de los medicamentos.

3.1.7.1._ ANTIVIRALES

Algunas consideraciones generales a tener en cuenta a la hora de seleccionar un tratamiento antiviral frente al SARS CoV-2 son el tiempo de evolución de los síntomas, ya que afecta a la idoneidad de los antivirales disponibles. En concreto, nirmatrelvir/ritonavir (Paxlovid) y molnupiravir (Lagevrio) deben prescribirse en los 5 días posteriores al inicio de los síntomas; y remdesivir (Veklury) debe prescribirse dentro de los primeros 7 días desde el inicio de los síntomas.

- Remdesivir (Veklury) (RSV)

Es un antiviral de amplio espectro. A nivel molecular es un profármaco análogo de nucleótidos, que interfiere en la polimerización de la ARN polimerasa implicada en la producción de ARN viral, evitando la replicación del SARS-CoV-2. Remdesivir ha mostrado actividad in vitro e in vivo contra el SARS CoV-2 ¹⁴⁷.

El ensayo ACTT-1 fue el ensayo pivotal que dio lugar a la autorización condicional de remdesivir. El estudio siguió un diseño adaptativo, fase III, doble ciego, multicéntrico, aleatorizado y controlado con placebo, con el objetivo de evaluar la eficacia y seguridad de Remdesivir en adultos hospitalizados diagnosticados de COVID-19. El resultado arrojó un tiempo medio de recuperación de 11 días en la rama de Remdesivir frente a 15 días en la rama placebo. El beneficio fue más evidente en los pacientes hospitalizados que recibían oxígeno suplementario, pero no en aquéllos que precisaron cánulas nasales de alto flujo (CNAF), ventilación mecánica no invasiva (VMNI), ventilación mecánica invasiva

(VM) o ECMO. El estudio no tuvo el poder estadístico suficiente para poder detectar diferencias dentro de los subgrupos. Y en cuanto a la mortalidad a los 29 días fue del 11,4% en la rama de remdesivir frente a 15,2% de la rama placebo, no alcanzando la significación estadística ¹⁴⁸.

Se han hecho otros estudios con resultados modestos, como el ensayo multicéntrico controlado aleatorizado de tratamiento para COVID-19 hospitalizados en Canadá (CATCO), cuyos resultados tampoco demuestran que remdesivir redujera la mortalidad en comparación con el tratamiento estándar. Los pacientes que recibieron remdesivir tuvieron menos probabilidad de recibir ventilación mecánica en comparación con los que recibieron el tratamiento estándar ¹⁴⁹. El estudio DisCoVery, ensayo abierto en fase 3, multicéntrico, aleatorizado y controlado, realizado en Europa en 440 pacientes adultos ingresados por COVID-19, no observó beneficio clínico del remdesivir en pacientes hospitalizados sintomáticos durante más de 7 días y que recibieron oxígeno suplementario ¹⁵⁰. El WHO Solidarity Trial, un ensayo clínico abierto y multinacional en pacientes hospitalizados en 35 países, no demostró beneficio significativo de Remdesivir en pacientes que estaban con ventilación mecánica al inicio del estudio; Remdesivir tuvo un efecto modesto, pero estadísticamente significativo, en la reducción de riesgo de muerte o progresión a ventilación mecánica en pacientes hospitalizados que requirieron oxígeno ¹⁵¹

Un estudio retrospectivo sobre el impacto del momento de inicio del tratamiento con remdesivir demostró que los pacientes con COVID-19 moderado-grave, cuyo inicio de tratamiento fue en un periodo menor o igual a 9 días desde el inicio de los síntomas tuvieron significativamente menos probabilidades de muerte en comparación con aquellos que lo iniciaron con más de 9 días desde el inicio de los síntomas ¹⁵². Esto podría

explicarse por la posible disminución de la eficacia de los antivirales a medida que progresa la infección y el daño celular no depende tanto del virus como de la respuesta inmunitaria del huésped, similar a otras infecciones virales.

El ensayo de fase 3 PINETREE evaluó remdesivir como un régimen ambulatorio de 3 días en pacientes de alto riesgo con COVID-19; mostró una reducción relativa del 87 % en el riesgo de hospitalización o muerte por todas las causas hasta el día 28 comparado con el placebo ¹⁵³.

Remdesivir puede ser considerado para pacientes no hospitalizados con COVID-19 leve-moderado con alto riesgo de progresión y pacientes hospitalizados que no requieren oxígeno suplementario o que sólo requieren oxígeno convencional. En la práctica clínica se considera también remdesivir más dexametasona en pacientes hospitalizados que requieren oxígeno convencional, ventilación no invasiva, ventilación mecánica o ECMO y para pacientes inmunocomprometidos que requieren un dispositivo de alto flujo o ventilación no invasiva ⁴¹. No se recomienda usar Remdesivir en el paciente crítico

- Nirmatrelvir/ritonavir (Paxlovid)

Nirmatrelvir es un antiviral que inhibe la proteasa del SARS CoV-2 (3CL pro), evitando la escisión de la poliproteína viral necesaria para que la proteína se vuelva funcional, inhibiendo así la capacidad de replicación del SARS-CoV-2. El ritonavir no tiene actividad antiviral frente a SARS-CoV-2; es utilizado en este contexto para disminuir la metabolización de nirmaltrevir y aumentar así su vida media.

Nirmatrelvir potenciado con ritonavir está aprobado para el tratamiento de paciente con COVID-19 no graves con riesgo moderado o alto de hospitalización.

No hay datos de ensayos clínicos aleatorizados en pacientes hospitalizados

En el ensayo EPIC-HR que se llevó cabo en adultos no hospitalizados con COVID-19 leve o moderado, que no estaban vacunados y tenían alto riesgo de progresión a enfermedad grave, se demostró que el tratamiento con nirmatrelvir 300 mg más ritonavir 100 mg, vía oral dos veces al día, durante 5 días, y administrado en los 5 días posteriores al inicio de los síntomas, redujo el riesgo de hospitalización o muerte hasta el día 28 en un 89% de tratados en comparación con placebo y en el 100% en la prevención de muertes en pacientes no vacunados con alto riesgo de progresión a enfermedad grave¹⁵⁴. Esta eficacia es comparable al remdesivir ¹⁵³ y superior a la de molnupiravir ¹⁵⁵. Posteriormente el ensayo EPIC-SR, que incluyó población vacunada con bajo y alto riesgo de progresar a enfermedad grave, demostró que Nirmatrelvir potenciado con ritonavir no redujo la duración de los síntomas y no tuvo efecto estadísticamente significativo en el riesgo de hospitalización o muerte comparado con placebo, pero sin embargo las tasas de eventos fueron más bajas ¹⁵⁶.

Algunos estudios observacionales si han encontrado beneficio de este antiviral en pacientes vacunados que tenían un alto riesgo de progresar ^{157,158}

Una consideración importante cuando se prescribe este antiviral es realizar una evaluación cuidadosa de las posibles interacciones farmacológicas, ya que el ritonavir afecta a múltiples enzimas del citocromo CYP3A4. Existen varios recursos disponibles para evitar y reducir las posibles interacciones farmacológicas importantes ¹²⁶.

- Molnupiravir

El molnupiravir es el profármaco oral de la beta-D-N4-hicroxicitidina (NHC), un ribonucleósido que ha demostrado actividad antiviral in vitro y en algunos ensayos

clínicos ¹⁵⁹. La adsorción de NHC por parte de ARN polimerasas virales da lugar a mutaciones virales y a mutagénesis letal ^{160,161}.

El ensayo MOVE-OUT reclutó a adultos no vacunados, de alto riesgo, no hospitalizados, y concluyó que Molnupiravir redujo la tasa de hospitalización o muerte en un 31% en comparación con placebo. Este ensayo se realizó antes de la aparición de la variante Ómicron y sus subvariantes; un análisis secundario encontró menor necesidad de intervenciones respiratorias en pacientes COVID hospitalizados que recibieron Molnupiravir frente a placebo ¹⁵⁵.

El ensayo PANORAMIC que se realizó en pacientes no hospitalizados, vacunados con 3 dosis, en la era Ómicron, en pacientes de alto riesgo no detectó reducción en la hospitalización o muerte de aquellos que recibieron molnupiravir comparado con el tratamiento estándar ¹⁶².

En los pacientes inmunodeprimidos, en los que el aclaramiento del virus es más lento, se observaron nuevas mutaciones de la proteína S, lo que podría sugerir que molnupiravir en este subgrupo de pacientes podría estimular la evolución del virus ¹⁶³.

Molnupiravir ha demostrado tener una eficacia menor que las otras opciones recomendadas para el mismo objetivo ¹⁵⁵, por lo que le fue retirada la aprobación por la AEMPS y la EMA. Está indicado sólo para pacientes con COVID no grave, con alto riesgo de hospitalización, 800 mg dos veces al día durante 5 días, dentro de los 5 primeros días del inicio de los síntomas, cuando nirmatrelvir y remdesivir no estén disponibles. Existen recomendaciones adicionales contra el uso de Molnupiravir en pacientes de riesgo moderado y bajo.

- Anticuerpos monoclonales frente a proteínas del SARS-CoV2 (AcMo)

Los AcMo se han utilizado tanto para profilaxis post-exposición como para tratamiento de la COVID-19 en pacientes con alto riesgo de progresión. Desde Noviembre de 2022 se ha retirado la aprobación para el uso de estos anticuerpos en muchos países por reducciones en la susceptibilidad de las subvariantes de Ómicron a los mismos. Las mutaciones acumuladas por el virus del SARS CoV-2 junto a los sublinajes de Ómicron contribuyen a la evasión del virus a los AcMo previamente efectivos para el tratamiento o prevención del COVID-19.

3.1.7.2. MODULADORES DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA

- Corticosteroides

Recomendados para pacientes con COVID-19 grave o crítico; generalmente no se recomiendan para pacientes con COVID-19 no grave. El más empleado es dexametasona.

Según el estudio realizado por el grupo colaborativo RECOVERY, un ensayo aleatorizado, controlado y abierto, en pacientes hospitalizados con enfermedad grave por COVID-19 que precisaron oxígeno suplementario o requirieron ventilación mecánica invasiva, el uso de dexametasona, a dosis de 6 mg diarios durante 10 días, mejoró la supervivencia y redujo la mortalidad por todas las causas, en un periodo de 28 días frente a tratamiento estándar (mortalidad de 21,6% frente a 24,6%) ¹⁶⁴. Sin embargo, el tratamiento podría ser perjudicial para los pacientes con viremia activa.

Hay que tener precaución con los pacientes que reciben corticoides de manera prolongada (más de 2 semanas) ya que puede aumentar el riesgo de infecciones fúngicas oportunistas y reactivación de infecciones latentes como la tuberculosis, infecciones por

herpesvirus o el virus de la hepatitis B. También puede aumentar el riesgo de estrongiloidiasis grave en pacientes tratados con tocilizumab y corticoides.

La dexametasona es un inductor moderado del citocromo P450 (CYP)3 A4 por lo que se debe de revisar la medicación concomitante del paciente para evaluar el potencial de posibles interacciones medicamentosas.

- Tocilizumab

Se puede considerar el uso de tocilizumab, un inhibidor del receptor de la interleucina-6, para pacientes seleccionados que precisan oxígeno suplementario (convencional, oxígeno con cánula nasal de alto flujo, ventilación mecánica no invasiva o ventilación mecánica) y tienen evidencia de progresión clínica o marcadores elevados de inflamación, pacientes hospitalizados que requieren oxígeno de alto flujo o ventilación no invasiva y pacientes hospitalizados que requieren ventilación mecánica invasiva o ECMO.

En el estudio COVACTA, 452 pacientes con COVID-19 fueron asignados al azar para recibir una dosis de tocilizumab o placebo. En el día 28, no se observaron diferencias significativas en la mortalidad entre el grupo de Tocilizumab y el de placebo¹⁶⁵. Hay que destacar que sólo una minoría de pacientes en el ensayo COVACTA fueron tratados con glucocorticoides.

En casos graves de COVID-19, el ensayo EMPACTA encontró que los pacientes hospitalizados sin ventilación que recibieron tocilizumab en los primeros 2 días de ingreso en la UCI tenían un menor riesgo de progresión a ventilación mecánica o muerte al día 28 en comparación con los que no recibieron Tocilizumab¹⁶⁶.

El ensayo REMDACTA no mostró un beneficio adicional para Tocilizumab más Remdesivir en comparación con Remdesivir aislado en pacientes con neumonía grave por COVID-19 ¹⁶⁷.

A diferencia de los anteriores, los resultados del ensayo internacional REMAP-CAP evaluaron la eficacia de Tocilizumab, 8 mg/kg, sarilumab, 400 mg, o control sin inmunomodulación en adultos hospitalizados en estado crítico que recibían soporte en UCI. La mortalidad hospitalaria en el día 21 fue del 28 % para Tocilizumab, del 22,2 % para sarilumab y del 35,8 % para el control¹⁶⁸.

Y del mismo modo, el ensayo RECOVERY, un ensayo aleatorizado, controlado y abierto, evaluó el uso de Tocilizumab en adultos hospitalizados con infección por COVID-19 en comparación con el tratamiento estándar. Los pacientes que recibieron Tocilizumab tenían menos probabilidades de ventilación mecánica invasiva o muerte a los 28 días ¹⁶⁹.

- Baricitinib

Es un inhibidor de las Janus cinasas (JAK) JAK-1 y JAK-2. Esto da lugar a una inhibición de la endocitosis del SARS CoV-2 y de la señalización de citocinas proinflamatorias (interleucina -IL-2, IL-6 e IL-12 e interferón –IFN- alfa, INF beta e INF gamma).

El estudio Adaptive Covid-19 Treatment Trial -2 (ACTT-2) evaluó la combinación de baricitinib (4 mg diarios durante 14 días) y remdesivir (100 mg IV diarios durante 10 días) en comparación con remdesivir más placebo. Los pacientes que recibieron la combinación baricitinib y remdesivir tuvieron una mediana de tiempo de recuperación,

a los 29 días, de 7 días en comparación con 8 días del control ($p = 0,03$) y un 30 % más de probabilidades de mejora del estado clínico en el día 15 ¹⁷⁰.

El ensayo COV-BARRIER demostró que baricitinib es el primer tratamiento inmunomodulador para reducir la mortalidad por COVID-19 en un ensayo controlado con placebo¹⁷¹.

No está autorizado por la EMA, pero podría emplearse baricitinib como alternativa en caso que no haya disponibilidad de tocilizumab u otros inhibidores de IL-6. Se recomienda tratamiento con baricitinib para pacientes con COVID grave o crítico. Se pueden asociar a dexametasona y a bloqueadores de los receptores de la IL-6 (tocilizumab y sarilumab), en combinación si es preciso. ¹⁷².

No están recomendados otros inhibidores de las Janus Kinasas como el ruxolitinib o el tofacitinib.

- Anakinra

Se trata de un polipéptido recombinante antagonista de los receptores de la IL-1 (IL-1Ra), que inhibe los efectos de la misma y secundariamente de IL-6 e IL-18 (proinflamatorias).

El ensayo SAVE-MORE mostró que el inicio temprano del tratamiento con anakinra, guiado por los niveles del receptor soluble del activador de plasminógeno tipo uroquinasa (suPAR), un marcador proinflamatorio con valor pronóstico en COVID-19, en pacientes hospitalizados con COVID-19 moderado y grave redujo significativamente el riesgo de un peor resultado clínico en el día 28 ¹⁷³.

- Plasma de convalecientes.

El plasma de donantes que se han recuperado de la COVID-19 puede contener anticuerpos frente a SARS-CoV-2, independientemente del estado de vacunación, que podrían ayudar a controlar la replicación viral ¹⁷⁴. Inicialmente este tratamiento tuvo la aprobación por parte de algunas agencias de medicamentos para su administración en pacientes hospitalizados por COVID-19, pero dada la evidencia disponible, su uso puede ser más eficaz si se administra al inicio de la infección, en pacientes con niveles bajos o indetectables de anticuerpos anti-SARS CoV-2 o aquellos con una inmunodeficiencia humoral ^{175,176}. Se limitaría el uso de plasma de convaleciente a aquellos productos que contuvieran altos títulos altos de anticuerpos anti-SARS CoV-2, procedente de pacientes que se hubieran recuperado en fechas en las que la variante del SARS CoV-2 pudiera coincidir con la variante que cause la enfermedad del paciente ¹⁷⁷.

3.1.7.3. OTROS TRATAMIENTOS

Muchos pacientes requieren cuidados de apoyo, que pueden incluir ⁴²:

- Manejo respiratorio de la hipoxemia y del SDRA. Mas del 75% de los pacientes hospitalizados por COVID-19 van a requerir oxígeno suplementario. En caso de no respuesta a la oxigenoterapia convencional se pueden usar cánulas nasales de alto flujo (CNAF) o ventilación mecánica no invasiva; si tampoco responden a estas medidas, se precisaría reevaluación para valorar VMI ¹⁷⁸.
- Soporte hemodinámico para sepsis y shock séptico.
- Trombopprofilaxis o tratamiento de la coagulopatía.

3.1.8.-REINFECCION POR SARS CoV-2 , INFECCIONES DE BRECHA, REACTIVACION VIRAL y LONG COVID

- La **reinfección por SARS CoV-2** se define como la infección de un individuo después de recuperarse de una infección anterior. Es fundamental determinar las tasas de reinfección para establecer la eficacia de la profilaxis vacunal actual ¹⁷⁹. Entre las personas no vacunadas y previamente infectadas, la tasa de reinfecciones confirmadas puede aumentar desde 10,5 por 100000 días-persona en riesgo dentro de los 2 meses posteriores a la primera infección hasta 30,2 por 100000 días-persona tras más de 1 año después de la primera infección¹⁸⁰

En un estudio realizado en trabajadores de la salud seguidos durante 6 meses, se observó que la presencia de anticuerpos frente a SARS CoV-2 se asoció con un riesgo reducido de reinfección por SARS-CoV-2¹⁸¹.

- Además, los pacientes pueden presentar **infecciones de brecha**, que son aquellas que ocurren en personas que completaron el proceso de vacunación con o sin dosis de refuerzo. En comparación con las personas no vacunadas ¹⁸², las infecciones de brecha presentan menos probabilidad de evolución a infección grave o persistencia de síntomas por 28 días o más. Las infecciones de brecha presentan unos intervalos más estrechos en pacientes inmunocomprometidos. ^{182,183}

El riesgo de reinfecciones o infecciones de brecha aumentaría con la exposición a variantes del virus que no son neutralizadas por los anticuerpos frente a variantes previas. ¹⁸⁴

- Es importante además diferenciar la reinfección de la **reactivación o recaída del virus**. La recaída se asocia con una disminución en la eliminación del virus SARS CoV-

2, que a veces va seguida de un rebote de la carga viral; es decir, se reactiva el virus latente, habitualmente con bajas cargas virales. La razón a menudo no está clara.

Las personas inmunocomprometidas pueden presentar una **eliminación viral prolongada** durante muchas semanas, con o sin síntomas de COVID-19^{185,186}. La mortalidad en este subgrupo poblacional es muy alta. Se están probando pautas de tratamiento combinadas y mantenidas durante periodos prolongados en los pacientes inmunocomprometidos.

- Cuando los pacientes, informan de síntomas y afecciones persistentes nuevos o recurrentes, más de 4 semanas después del diagnóstico de COVID-19 , se acepta como diagnóstico **COVID prolongado o Long COVID, condición post-COVID-19 y secuelas post-agudas del SARS CoV-2.** Se trata de un grupo muy heterogéneo de enfermos. Se están desarrollando investigaciones cuya finalidad es definir mejor a estos pacientes con síntomas persistentes y lograr estrategias terapéuticas específicas.

3.1.9.- PREVENCIÓN

3.1.9.1.- MEDIDAS GENERALES DE PREVENCIÓN

Tienen como objetivo evitar o minimizar la propagación comunitaria ¹⁸⁷:

- **Lavado de manos** con agua y jabón durante al menos 20 segundos. Se puede usar un desinfectante para manos a base de alcohol, si no hay agua y jabón disponibles.
- Evitar tocarse los ojos, la nariz y la boca con las manos sin lavar.
- Evitar el contacto cercano con personas enfermas.

- Las personas enfermas deben quedarse en casa.
- Deben cubrirse con un pañuelo desechable al toser o estornudar y luego desecharlo en la basura.
- Las mascarillas quirúrgicas podrían prevenir la transmisión de coronavirus humanos e influenza cuando las usan personas sintomáticas; esto puede tener implicaciones en el control de la propagación de la COVID-19 ¹⁸⁸.

3.1.9.1.- VACUNAS

La vacunación ha impactado de una manera muy importante en la letalidad, ya que, a partir de 2021, año en el que se alcanzaron tasas de vacunación por encima del 80% en pacientes mayores de 80 años, se observó una clara disminución de la letalidad tanto en pacientes ambulatorios como en hospitalizados ¹⁴³.

Las autoridades regulatorias mundiales reconocen actualmente dos vacunas de ARNm (Comirnaty, desarrollada por Pfizer-BioNTech; y Spikevax, desarrollada por Moderna), vacunas de proteína S recombinante (Nuvaxovid de Novavax; COVID-19 vaccine, desarrollada por Valneva; VidPrevtyl Beta, desarrollada por Sanofi Pasteur; y Bimervax, de Hipra) y vacunas que usan adenovirus como vector (Vaxzevria, desarrollada por AstraZeneca; y Jcovden, desarrollada por Janssen).

Se recomienda la vacunación contra la COVID-19 a todas las personas de más de 6 meses. El tipo y la dosis de la vacuna, así como el momento de la dosis dependerán de la edad del paciente y de las condiciones médicas subyacentes ⁴².

La vacunación ha demostrado eficacia en la reducción de casos sintomáticos, asintomáticos y de carga viral en caso de producirse una infección asintomática. Además, se ha observado un tiempo de aclaramiento del virus más corto.

Aunque la efectividad de las vacunas es elevada, existen factores como la edad, situación inmunológica previa, tipo de vacuna administrada, variante circulante, tiempo transcurrido desde la última vacunación, etc., que pueden reducir la efectividad ¹⁴³.

Las vacunas contra la COVID-19 son seguras y eficaces. Como efectos adversos se han descrito con la Comirnaty (BioNTech/Pfizer), eritema multiforme, parestesias, astenia, letargia disminución del apetito y sudoración nocturna. Con Spikevax (Moderna), eritema multiforme sobre todo. Con Vaxzevria (AztraZeneca) se ha observado trombocitopenia inmune. Con la vacuna de Janssen se han descrito trombocitopenia autoinmune, tromboembolismo venoso y mielitis transversa ¹⁸⁹.

3.2. – EL SISTEMA INMUNE

El sistema inmunitario se compone de una amplia variedad de células, tejidos y órganos que tienen como objetivo, entre otros, proteger al individuo contra los organismos invasores como las bacterias, virus, hongos y células cancerosas y mantener la salud.

Existen dos tipos principales de respuesta inmune: la inmunidad innata y la inmunidad adquirida.

3.2.1- LA INMUNIDAD INNATA

Es la primera línea de defensa y actúa de forma rápida y generalizada ante cualquier agente extraño. Sus principales componentes son las barreras físico-químicas naturales como la piel, mucosas o pH gástrico ácido, las células dendríticas, las células fagocíticas como macrófagos y neutrófilos, las células NK y determinados factores solubles, como citocinas derivadas de macrófagos, lisozima, proteínas relacionadas con la inflamación, como la proteína C reactiva y el sistema del complemento ¹⁹⁰

Los neutrófilos se caracterizan por poseer gránulos y tener el núcleo polisegmentado; por esta razón también son conocidos como “granulocitos” o “células polimorfonucleares neutrófilos” (PMN) ¹⁹¹. Forman parte del sistema de la inmunidad innata, constituyendo la mayoría de los leucocitos circulantes; suelen ser los primeros en migrar hacia el sitio en el que asienta el agente agresor ¹⁹². Una vez en el sitio de inflamación, los neutrófilos son activados para producir citocinas, degranularse y fagocitar a los microorganismos y sustancias extrañas. Adicionalmente, en los últimos años, se ha descrito la existencia de una nueva forma de defensa elaborada por los PMN a través de la formación de estructuras extracelulares llamadas NET (*Neutrophil Extracellular Traps*), proceso conocido como NETosis ¹⁹³. La NETosis fue descrita por primera vez en 1996 como una forma de muerte celular diferente a la necrosis o la apoptosis ¹⁹⁴.

Las NETs son estructuras extracelulares liberadas por los neutrófilos como parte de su respuesta inmunitaria. Están formadas por cromatina, proteínas nucleares (sobre todo histonas) y proteasas formando una red tridimensional. Tienen la capacidad de capturar y destruir patógenos, además de modular la respuesta inflamatoria ^{195 196}

Los mecanismos moleculares por los que se activa la NETosis no son bien conocidos, pero se han sugerido varias vías, como la inducción de ROS (especies reactivas de oxígeno), la estimulación por citocinas proinflamatorias (IL-8, TNF-alfa, IL-17), forbol-miristato-acetato (PMA), lipopolisacárido (LPS) y autoanticuerpos.¹⁹⁶

La principal función de las NETs es destruir patógenos, especialmente bacterias y hongos, en un espacio limitado. Actúan como trampas al atrapar a los microorganismos, evitando su diseminación y permitiendo su destrucción. Además, las NETs pueden actuar como presentadoras de antígenos a otras células del sistema inmunitario, como los macrófagos.¹⁹⁷

Sin embargo, a pesar de su efecto beneficioso, las NETs pueden tener efectos nocivos: su activación inadecuada puede contribuir al daño tisular y la inflamación excesiva. Esta es la base de su papel patogénico en ciertas entidades, como las enfermedades autoinmunes sistémicas.¹⁹⁸

Por otro lado, el atrapamiento inespecífico de células circulantes (entre otras, las plaquetas) en estas redes y la generación de factores históxicos provenientes de la destrucción celular, favorecerían la inducción de inmutrombosis.^{199 200}

3.2.2.- LA INMUNIDAD ADQUIRIDA

Es más específica y se desarrolla a lo largo de la vida de un individuo. Implica la participación de células especializadas llamadas linfocitos T y B.

Los linfocitos T desempeñan un papel central en la inmunidad celular. En este grupo de células están englobados los linfocitos T helper (CD4+) que son los responsables de coordinar la respuesta inmunitaria, activando a otras células

inmunitarias y estimulando a los linfocitos B a producir anticuerpos. Los linfocitos T citotóxicos (CD8+) reconocen y destruyen células infectadas por patógenos intracelulares. Los linfocitos Th17 estimulan la respuesta inflamatoria. Y los linfocitos T reguladores modulan el resto de actividades del sistema ¹⁹².

Los linfocitos B producen anticuerpos que se unen a los antígenos específicos presentes en los diferentes patógenos, favoreciendo la destrucción de los mismos vía captación por macrófagos o unión a complemento ¹⁹².

3.2.3.- ACTIVACIÓN Y REGULACIÓN DEL SISTEMA INMUNE POR EL SARS-COV-2

La desregulación del sistema inmune es uno de los mecanismos que juega un papel importante en la fisiopatología de la afectación multiorgánica por COVID-19 ²⁹

La infección por SARS-CoV-2 activa en primer lugar las vías inmunitarias innatas mediante receptores de reconocimiento de patrones (RPR) específicos tras reconocer a PAMPs (Patrones moleculares asociados a patógenos) propios de aquél. Los receptores que reconocen estos PAMPs son receptores tipo Toll (TLR 3, 4 y 7), receptores tipo RIG-I (RLR) del gen inducible del ácido retinoico, receptores tipo MDA5 (gen 5 asociado a la diferenciación del Melanoma) y receptores tipo NOD (receptores similares al dominio de oligomerización de unión a nucleótidos) (NLR).^{201 202}

Tras el reconocimiento se activan vías de señalización, como la vía NF-κB, que promueve la transcripción de las citocinas TNF alfa, IL-1 beta e IL-6, induciendo una respuesta inflamatoria general y activando la inmunidad adaptativa; y la vía IRF 3/7 que

promueve la liberación de interferón (INF) I y III, y que activa las vías JAK1/TYK 2-STAT 1/2, STAT1 y STAT2, las que, junto a IRF 9, dan lugar a la producción de genes estimulados por INF (siglas en inglés, ISG) ^{201,203 204}. La señalización de interferón, la producción de citocinas y la muerte celular son características de la respuesta inmune innata; su objetivo es reducir la replicación viral y prevenir su propagación ²⁰⁵.

La característica inmunológica de la COVID grave es la producción exagerada de citocinas como IL-1 Beta, IL-2, IL-6, IL-8 e IL-10 y el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSM), INF-gamma y TNF-alfa, proteína-10-inducible por interferón (IP10), proteína inhibidora de macrófagos (MIP)-1 alfa, factor de necrosis tumoral (TNF-alfa), entre otros ⁴⁸. Múltiples estudios han demostrado además que se produce una disminución en el número y agotamiento funcional de las células natural killer (NK) en la infección por SARS-CoV-2, con disminución de la citotoxicidad ²⁰⁶

En este contexto, se desarrolla una respuesta inmune adaptativa. Esta respuesta juega un papel crucial en la eliminación del virus y en la prevención de la progresión de la enfermedad. Los linfocitos T específicos de SARS-CoV2 se detectan ya a los 7 días de la infección. Los linfocitos B se diferencian en células B de memoria y células plasmáticas; éstas últimas generan inmunoglobulinas específicas isotipo IgM, detectables a títulos elevados a partir de 10-12 días del inicio de los síntomas y que tienden a disminuir después de los 18 días; y anticuerpos IgG, más tardíos, pero de duración asimismo más prolongada: de hecho, no comienzan a disminuir hasta las 8 semanas del inicio de síntomas ^{207 208}.

También se han detectado células T específicas del SARS-Co-V-2 en individuos no infectados, lo que sugiere una reactividad cruzada con coronavirus estacionales, pero se

desconoce si esta inmunidad preexistente puede ofrecer alguna protección frente a la COVID-19 ²⁰⁸.

3.2.4.-LINFOPENIA, NEUTROFILIA Y TORMENTA DE CITOCINAS

La COVID-19 grave está definida por una neutrofilia con linfopenia significativa y elevación de citocinas. Algunos estudios han observado una correlación significativa entre la disminución del recuento de linfocitos en pacientes con casos graves de COVID-19 en comparación con aquellos con casos leves ²⁰⁹. Sin embargo, la linfopenia como marcador de gravedad no parece ser específica de la COVID-19: se ha observado en otras neumonías virales como la producida en los casos de influenza ^{62 210}. El estudio de Tahtasakal et al., que incluyó a 534 pacientes hospitalizados estimó un valor de corte óptimo como parámetro pronóstico de menos de $1,04 \times 10^9$ linfocitos/L (sensibilidad 63,24% y especificidad 67,34 %, área bajo la curva 0,678 -IC 95 %: 0,636–0,717-) ²¹¹

La neutrofilia puede ser más específica de la COVID-19 grave que la linfopenia, pero es menos frecuente. Como consecuencia del aumento de neutrófilos y de la reducción de linfocitos, la relación neutrófilos-linfocitos (NLR) aumenta ²¹². Varios estudios han informado que un valor elevado del ratio neutrófilos a linfocitos (NLR) predice la gravedad de la enfermedad en la etapa temprana de la infección por SARS-CoV-2 ¹⁰⁴. Se ha considerado que un valor de corte de NLR mayor de 3,13 puede ayudar a identificar a los pacientes que probablemente requieran un control y una atención clínica más estrecha ²¹³.

La tormenta de citocinas (TC) y el síndrome de liberación de citocinas (SLC) son síndromes inflamatorios derivados de una respuesta inmunitaria excesiva,

potencialmente mortal, caracterizada por la activación de alto nivel de las células inmunitarias y la producción excesiva de citoquinas inflamatorias (INF- γ , IL-1, IL-6, TNF- α e IL-18, entre otras) y otros mediadores químicos. Puede desencadenarse por diversas terapias, patógenos, neoplasias, enfermedades autoinmunes y enfermedades monogénicas ²¹⁴. Aunque la tormenta de citoquinas es fácil de identificar en procesos que presentan niveles elevados de citoquinas en ausencia de patógenos, la línea divisoria en una infección grave, entre una respuesta normal y desregulada es borrosa, sobre todo si se considera que ciertas citoquinas pueden ser útiles tanto para controlar una infección como dañinas para el huésped ²¹⁵

Se considera que la TC es la principal causa de gravedad de la enfermedad y muerte en pacientes con COVID-19 ²¹⁶. Se relaciona además con la detección de linfopenia severa, trombosis e infiltración masiva de células mononucleares en múltiples órganos.

Existen algunas características diferenciales de la tormenta de citoquinas secundaria a la infección COVID-19 de la producida por otras causas. La linfopenia no se observa a menudo en los trastornos de tormenta de citoquinas, pero es un sello distintivo de la COVID-19 grave. No está claro si se debe a la infiltración de tejidos o a la destrucción de linfocitos ²¹⁵. Por otro lado, los trastornos de coagulación pueden ocurrir en la tormenta de citoquinas, pero sin embargo los eventos tromboembólicos parecen ser más frecuentes en la tormenta de citoquinas asociada con COVID-19 ²¹⁷.

3.3.-NETs Y COVID-19

3.3.1.- PAPEL DE LOS POLIMORFONUCLEARES NETROFILOS FORMADORES DE NETS EN LA COVID-19.

La implicación de los PMN en la patogenia de la COVID-19 se ve respaldada por las siguientes observaciones ^{217,218}:

- a) La presencia de PMN en vías respiratorias (incluso ocluyendo bronquiolos y alvéolos), en tejido intersticial (generalmente con infiltrado macrofágico asociado, pero no linfocítico) y microtrombos (junto con plaquetas y fibrina) en arteriolas de muestras de tejido pulmonar obtenidas de las necropsias de pacientes con neumonía por SARS CoV-2.
- b) En muestras de lavado broncoalveolar de pacientes las células predominantes son los PMN.
- c) Un aumento en el número de PMN o de la relación neutrófilos/linfocitos se asocia con una propagación de la inflamación, microtrombosis vascular, mayor gravedad y en general a un peor pronóstico en pacientes con COVID-19.

La presencia de infiltración de neutrófilos en los diferentes órganos tiene como consecuencia la formación de NETs, que pueden estar asociados a graves consecuencias, como el daño pulmonar agudo, SDRA, trombosis y daño multiorgánico ²¹⁹. Así, a pesar del efecto beneficioso que poseen para el control de determinadas infecciones, la falta

de autorregulación de las NETs conduce a lesiones tisulares colaterales y daño orgánico

220

El SARS CoV-2, al igual que otros virus, puede desencadenar directamente la formación de NETs mediante un mecanismo no identificado. Parece existir además una activación indirecta de formación de NETs inducida por las citoquinas proinflamatorias liberadas durante la infección por SARS CoV-2 ²²¹. Se ha observado que las citoquinas proinflamatorias liberadas en el COVID-19 regulan la actividad de los neutrófilos, que inducen la producción de quimiocinas, y éstas a su vez pueden inducir a los macrófagos a producir IL-1 beta, dando lugar a un bucle de señalización macrófago-neutrófilo, que favorece una inflamación progresiva e incontrolable ²²². La formación de NETs por parte de los neutrófilos activados daría lugar a la liberación de IFN por parte de las células dendríticas y a activación de los linfocitos T ²²³.

Los contenidos expulsados por los neutrófilos formadores de NETs como el ADN libre, histonas citrulinadas y mieloperoxidasas (MPO) se depositan dentro de la NET. Algunos de estos contenidos se liberan a la circulación y sus niveles se correlacionan con la densidad de los NETs y la gravedad de la COVID-19 ²²⁴.

Por lo tanto, las NETs podrían considerarse como potenciales biomarcadores del pronóstico de la COVID-19. Varios estudios a este respecto han demostrado que los niveles más altos de NETs se encuentran en los pacientes más graves o críticos, lo que destaca una correlación entre los NETs y la gravedad de la enfermedad ²²⁵.

3.3.2.- LAS NETS Y EL DAÑO PULMONAR EN LA COVID-19

Los estudios experimentales y clínicos documentan que la neutrofilia y la formación de NETs están altamente implicadas en la patogenia del daño pulmonar agudo en general y en el SDRA en la COVID-19, en particular ^{221 226}.

Las NETs son nocivas para el endotelio vascular y las células epiteliales pulmonares. La activación de neutrófilos en los pulmones promueve la liberación de citoquinas, proteasas, radicales de oxígeno activo y, eventualmente, NETs. Los componentes que se liberan en el proceso de NETosis, como el ADN, las histonas, la mieloperoxidasa (MPO), la elastasa neutrofílica (NE) y la high-mobility group box 1 (HMGB1) pueden ejercer actividad citotóxica, aumento de la permeabilidad endotelial y daño alveolar con incremento de la gravedad del COVID-19. La HMGB1 además es una proteína que participa en la adhesión plaquetaria y contribuye a la formación de trombos ²²⁷. El daño alveolar, el edema de la pared vascular, los trombos hialinos, la microhemorragia y la trombosis difusa de vasos periféricos han surgido como características clave de la COVID-19 que conducen a la insuficiencia respiratoria. Por ello, el daño pulmonar agudo y el SDRA inducidos por el SARS CoV-2 podrían estar mediados por la formación de NETs ²²⁸, así como a la activación del receptor de pirina 3 (NLRP3) del inflamosoma de los macrófagos ²²⁹

3.3.3.- IMPLICACIONES DE LAS NETS EN LA ACTIVACION DE CELULAS ENDOTELIALES, COAGULOPATIA E INMUNOTROMBOSIS

En la COVID-19, se produce una activación endotelial que da lugar la liberación de moléculas de adhesión de los leucocitos, citoquinas proinflamatorias y quimiocinas²³⁰. Las moléculas que median la inflamación vascular incluyen entre otras son la E-selectina y la molécula de adhesión celular vascular 1 (o VCAM1, por sus siglas en inglés).

Las concentraciones de VCAM1, así como las del factor de crecimiento vascular endotelial (o VEGF, por sus siglas en inglés) se han relacionado con la gravedad de la enfermedad en los pacientes con COVID-19.^{231 232}

El daño de las células y la generación de un medio protrombótico son otros de los mecanismos que se han propuesto en la fisiopatología de la COVID-19²³³. La lesión endotelial mediada por el virus y la endotelitis posterior que se observa en muchos lechos vasculares en pacientes con COVID-19 pueden desencadenar una producción excesiva de trombina, inhibir la fibrinólisis y activar las vías del complemento, iniciando la tromboinflamación dando como resultado depósito de microtrombos y disfunción microvascular^{234 235}. En este contexto, los niveles plasmáticos del biomarcador de coagulopatía, el dímero-D, están elevados y se ha correlacionado con la mortalidad en los paciente con COVID-19 grave²³⁶

Este entorno facilita la liberación de citoquinas y la formación de NETs. Las NETs dañarían aún más el endotelio y activarían las vías de coagulación²⁹, produciendo trombosis intravascular y secundariamente daño tisular y disfunción orgánica²³⁷. Sin embargo, el mecanismo preciso de la trombosis inducida por NETs no está bien definido. Según las publicaciones, los procesos de trombosis pueden ocurrir por doble vía: por

hiperactivación de la vía de la coagulación por el propio virus y por el daño endotelial²³⁵ ; y/o a través de la presentación de factor tisular activando la vía intrínseca de la coagulación²³⁸

Varios estudios demostraron que el suero de los pacientes con COVID-19 contiene complejos inmunes y autoanticuerpos que activarían la cascada del complemento, principalmente C3.²³⁹ La activación del complemento, a su vez, podría jugar un papel importante al atraer a células inmunes, fundamentalmente monocitos y neutrófilos a los diferentes tejidos, y en conjunto con las plaquetas, dar lugar a fenómenos de microtrombosis tisular e inmunotrombosis sistémica²⁴⁰ . La activación plaquetaria y la formación de fibrina inmunomediada podrían ser mecanismos para activar a los neutrófilos a formar NETs . Las NETs, a su vez, activarían a las plaquetas a través de la P selectina, lo que daría lugar a s vez a activación plaquetaria y trombosis²⁴¹

Se ha observado que la formación excesiva de NET induce el estado inmunotrombótico también en varias entidades caracterizadas por una importante respuesta inflamatoria y trombosis como en la sepsis, el SDRA y el cáncer^{229 242 243}

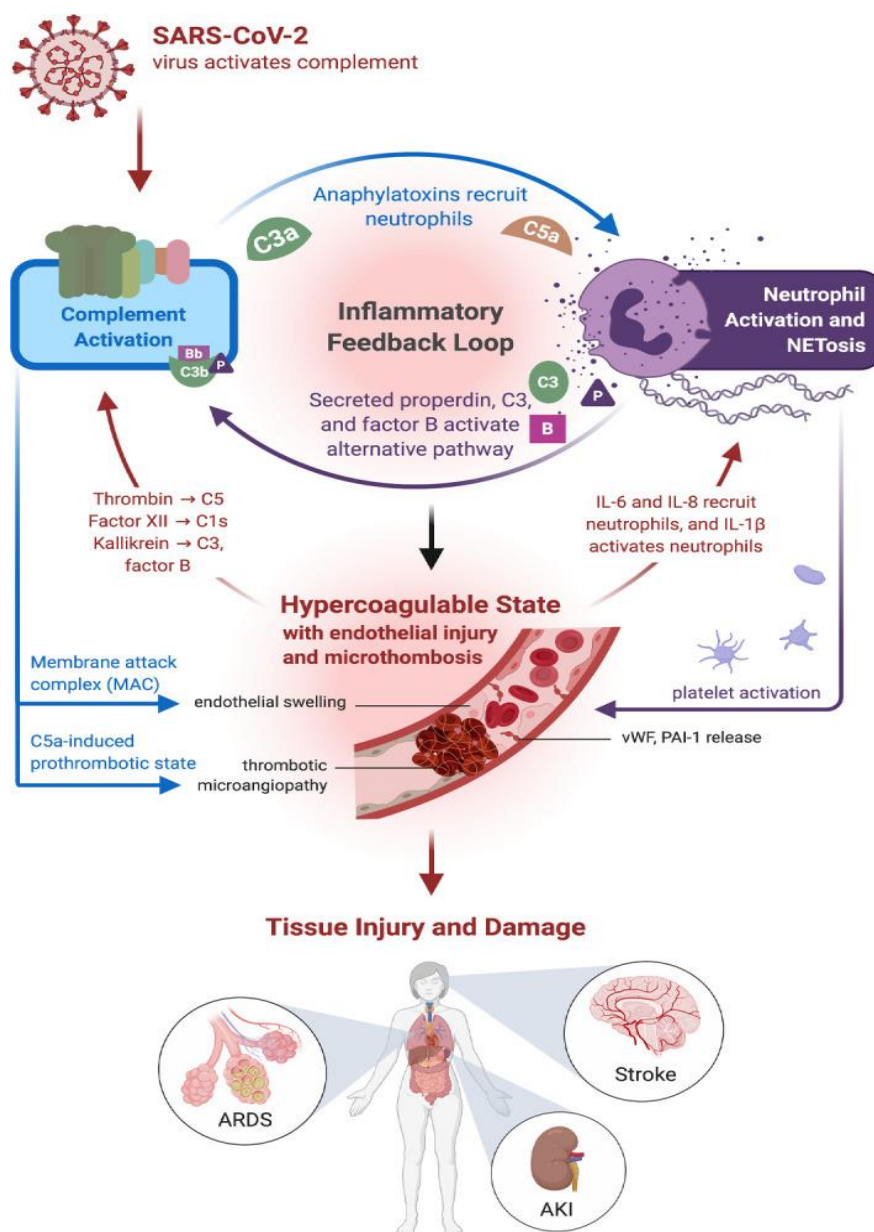


Figura 11. La activación del complemento produce C3a y C5a y recluta neutrófilos y monocitos. Los neutrófilos activados generan NETs, que contienen C3, properdina (P) y factor B (B) que activan la vía alternativa del complemento y determinan un circuito de retroalimentación. La respuesta sostenida de las NETs en la COVID-19 puede producir un estado de hipercoagulabilidad. El complejo ataque a la membrana (MAC) también produce inflamación endotelial y lesión tisular que lleva a la producción de IL-6 e IL-1 beta, que continúan activando a neutrófilos productores de NETs. El daño endotelial produce inhibidor del activador de plasminógeno-1 y libera factor tisular y C5a. Estas interacciones causan daño tisular y a menudo se asocian a una microangiopatía trombótica ²⁴⁰

La participación de las NETs en varios de los procesos fisiopatológicos de la COVID-19, aunque no exclusivo de esta infección, podría suponer un biomarcador pronóstico para la detección precoz de pacientes con evolución grave y estrechar la

vigilancia de los mismos. El desarrollo de posibles opciones terapéuticas que puedan actuar contra estas NETs podría ayudar a disminuir la gravedad de los pacientes con COVID-19.

4.- HIPOTESIS

En enfermos hospitalizados con neumonía por SARS CoV-2 planteamos que:

1. La formación de NETs y la concentración sérica de sus marcadores está incrementada, siendo mayor en individuos graves que en aquellos otros con enfermedad leve. Estos parámetros disminuyen progresivamente hasta la normalidad durante la fase de convalecencia. La concentración de DNAasa I, principal enzima catabólica de las NETs, presentará modificaciones inversas a las anteriores.
2. Existe una correlación positiva entre el recuento de POMN formadores de NETs y sus marcadores con la de otros parámetros clásicos indicativos de activación inflamatoria (niveles de proteína C reactiva, ferritina, LDH), así como con parámetros de activación endotelial (E-Selectina, molécula de adhesión celular vascular 1 -VCAM 1- y factor de crecimiento de células endoteliales -VEGF-) o plaquetaria (P-Selectina, factor plaquetario 4 o ligando de quimiocina 4 –PF4/CXCL4-) y trombótica (dímeros D, fibrinógeno).
3. El tratamiento con moduladores de la respuesta inflamatoria (glucocorticoides, tocilizumab, baricitinib), al tiempo que producen una mejoría clínica de los sujetos con COVID-19, determinaría una disminución de NETs y de sus marcadores.

5.-OBJETIVOS

OBJETIVOS

En enfermos hospitalizados con neumonía por SARS-CoV2, el objetivo genérico de este trabajo es el análisis del papel de las NETs en la COVID-19 y la posible influencia sobre la activación endotelial y plaquetaria.

Los objetivos específicos fueron:

1. Analizar los niveles de NETs en sangre periférica, tanto como porcentaje de neutrófilos como en número absoluto, en pacientes con neumonía por SARS-CoV-2, al ingreso hospitalario y después de la resolución.
2. Caracterizar el papel pronóstico de las NETs en la neumonía por SARS-CoV-2, junto a la de otros factores pronósticos establecidos (National Early Warning Score 2 —NEWS2—, CALL score, relación neutrófilos/linfocitos y concentraciones de proteína C reactiva, ferritina y dímeros D).
3. Evaluar la correlación entre los niveles de NETs en sangre periférica y la concentración sérica de marcadores de activación endotelial (E-selectina, molécula de adhesión celular vascular 1 —VCAM1- factor de crecimiento endotelial vascular -VEGF-) y plaquetas (P-selectina, ligando de quimiocina CXC 4/Factor plaquetario 4, PF4) y del sistema de la coagulación (concentración de dímeros D y fibrinógeno).
4. Analizar las modificaciones de los niveles de NETs y de sus marcadores tras la aplicación de cada uno de los posibles tratamientos empleados: glucocorticoides, baricitinib, tocilizumab.

6.-MATERIAL Y METODOS

6.1– DISEÑO DEL ESTUDIO

Se llevó a cabo un estudio observacional prospectivo en pacientes hospitalizados con neumonía por SARS-CoV-2 atendidos en el Hospital Universitario Puerta del Mar de Cádiz.

Se consideraron las siguientes fases de la enfermedad: fase precoz (desde el inicio de los síntomas hasta el octavo día tras el comienzo de éstos), avanzada (correspondiente a la fase de tormenta de citocinas, considerada a partir del octavo día) y convalecencia (considerada arbitrariamente desde el momento del alta hasta 14 días tras ella).

La realización de la investigación y la dinámica del estudio se llevaron a cabo de acuerdo con las directrices del Strengthening of the Observational Studies Report in Epidemiology Guidelines (STROBE).²⁴⁴

6.2.- ÁMBITO DE ESTUDIO Y SELECCIÓN DE LOS PACIENTES

6.2.1- Área de referencia

Se incluyeron pacientes hospitalizados en el Hospital Universitario Puerta del Mar (Cádiz, España) entre el 1 de febrero de 2021 y el 30 de junio de 2021, diagnosticados de infección confirmada por SARS-CoV2, evidencia radiográfica de infiltrados pulmonares y una edad superior o igual a 18 años. El Hospital Universitario Puerta del

Mar atiende el área geográfica correspondiente a las poblaciones de Cádiz y San Fernando.

6.2.2- Criterios de inclusión y de exclusión

Criterios de inclusión fueron: Individuos con edad superior o igual a 18 años, que tenían una infección confirmada por SARS-CoV2 y evidencia radiográfica de infiltrados pulmonares.

En los individuos controles sanos se estableció la ausencia de evidencia de enfermedad mediante historia clínica y analítica básica.

Los criterios de exclusión fueron: 1) Pacientes con infecciones concomitantes que pudieran estar influyendo en la etiología de la neumonía por SARS CoV-2. 2) Pacientes con infección confirmada por SARS-CoV-2 que habían sido ingresados por otros motivos y no presentaban signos o síntomas de COVID-19. 3) Pacientes con enfermedades autoinmunes sistémicas, debido a la elevación de NETs esperada en ellos. 4) Pacientes con enfermedad coronaria o cerebrovascular aguda, así como isquemia aguda de las extremidades inferiores, diagnosticadas en las dos semanas previas a la neumonía por COVID-19, debido a la elevación esperada de los parámetros de activación plaquetaria o endotelial. 5) Insuficiencia renal (tasa de filtración glomerular inferior a 25 ml/min) debido a su influencia en la concentración sérica de determinados biomarcadores. 6) Pacientes que no aceptaron entrar en el estudio o en el seguimiento.

6.2.3- Tamaño muestral

El tamaño muestral fue calculado para un error alfa = 0,05 bilateral y una potencia del 80%, atendiendo a que un 30% de los enfermos presentarían un pronóstico de enfermedad grave, de acuerdo a la escala NEWS2^{245 130 131}. El número calculado de enfermos a incluir era de 79. Fueron incluidos finalmente 87 pacientes, cifra que corresponde a la totalidad de pacientes hospitalizados consecutivos elegibles durante el periodo de estudio.

6.2.4- Población control

Se reclutaron 30 individuos sanos, emparejados por edad y sexo, con el objetivo de establecer parámetros de normalidad relativos a NETs y otros parámetros relacionados con los PMN, endotelio y las plaquetas.

6.3.- FUENTES DE INFORMACIÓN, RECOGIDA DE DATOS

6.3.1.- Rastreo de casos.

Se hizo a partir de la búsqueda activa diaria de todos aquellos casos de pacientes hospitalizados con el diagnóstico de neumonía COVID-19 en las Salas de Hospitalización del Servicio de Medicina Interna/Enfermedades Infecciosas/Neumología del Hospital Universitario Puerta del Mar, Cádiz. Para la valoración en la fase de convalecencia fueron atendidos en el Hospital de Día o en Consultas Externas.

6.3.2.- Recogida de la Información

Una vez hecha la selección de posibles casos en la fase anterior, se comprobó la cumplimentación por parte de todos los pacientes de los criterios de inclusión y la ausencia de criterios de exclusión. Una vez incluido el paciente se recogieron los datos que se consideraron entre las variables de estudio previamente establecidas.

6.3.3.-Validación de la información recogida.

El coordinador del estudio se encargó de validar todos los protocolos de recogida de datos.

6.4. VARIABLES DE ESTUDIO

La variable dependiente principal fue la necesidad de ingreso de los pacientes en UCI desde una unidad médica, bien desde Medicina Interna o Neumología, debido a la necesidad de ventilación mecánica, o la mortalidad intrahospitalaria por todas las causas.

Fueron variables independientes:

- Edad y sexo.
- Comorbilidades.
- Situación clínica basal, detectada a través de las escalas NEWS2 y CALL score.

- Niveles de NETs y moléculas relacionadas en el momento del ingreso.
- Relación PMN/linfocitos y concentraciones séricas de proteína C reactiva y ferritina en el momento del ingreso.
- Moléculas indicativas de activación endotelial o plaquetaria y niveles de dímeros D y fibrinógeno en el momento del ingreso.
- Tratamientos farmacológicos aplicados

6.5.-PROTOCOLO DE ESTUDIO Y SEGUIMIENTO

Los pacientes fueron diagnosticados de COVID-19 mediante pruebas rápidas de Antígenos o detección de ácidos nucleicos por PCR y presencia de infiltrados en la radiografía de tórax

A su ingreso se recabó la información necesaria que se obtuvo de la historia clínica electrónica. Los datos que se recogieron se clasificaron en:

- Datos demográficos: Edad y sexo
- Comorbilidades y presencia de factores de riesgo cardiovascular, puntuación en las escalas de CHA₂DS₂-VASc y de Wells para embolismo pulmonar
- Tiempo transcurrido desde el inicio de la enfermedad o desde el test positivo frente a SARS CoV-2.
- Síntomas al ingreso y situación respiratoria mediante el cálculo de la relación SpO₂/FiO₂.
- Valoración de la gravedad en función de la escala NEWS2 (National Early Warning Score 2) y CALL score.

- Exploraciones complementarias rutinarias: hemograma con recuento de neutrófilos, recuento de linfocitos y ratio neutrófilos/linfocitos -NLR-, parámetros de coagulación, incluyendo dímeros D, bioquímica sérica elemental (glucemia, creatinina, iones, transaminasas), concentraciones séricas de creatinquinasa, troponina, proteína C reactiva, procalcitonina y ferritina, gasometría (arterial o venosa, en función de las características del enfermo), radiografía de tórax y electrocardiograma.

Para los objetivos de este estudio, se incluyeron las determinaciones experimentales de:

- Formación de NETs por los PMN, mediante citometría de flujo y determinación de la concentración sérica de mieloperoxidasa.
- Concentración sérica de DNAasa I.
- Concentración sérica de parámetros implicados en la activación endotelial (E-selectina, VCAM1, VEGF) y plaquetaria (P-selectina, PF4).

Los estudios complementarios, la relación SpO_2/FiO_2 y los estudios experimentales se obtuvieron en el momento del ingreso (Tb), al alta hospitalaria (Ta) y 14 días tras ésta (T14a).

La valoración del riesgo cardiovascular de los pacientes se hizo aplicando la escala CHA_2DS_2-VASc Score. Esta última es una valoración que se usa para estimar el riesgo de accidente cerebrovascular tromboembólico en pacientes con fibrilación auricular en función de la presencia de factores de riesgo mayores (ACV previo o embolia sistémica

o edad mayor o igual a 75 años) o no mayores pero clínicamente relevantes (Insuficiencia cardiaca, o disfunción sistólica ventricular izquierda moderada a grave, hipertensión o diabetes mellitus, sexo femenino, edad entre los 65 y 74 años y enfermedad vascular)²⁴⁶. La valoración de riesgo de enfermedad tromboembólica venosa al ingreso se hizo por la escala de Wells²⁴⁷

La gravedad de los pacientes con COVID-19 se clasificó según la puntuación NEWS2 (Nacional Early Warning Score 2). La puntuación NEWS2 incluye la frecuencia respiratoria, la necesidad de oxígeno suplementario, la saturación de oxígeno, la insuficiencia respiratoria hipercápnica, la presión arterial sistólica, el pulso, la temperatura y el nivel de consciencia. Un índice NEWS2 > 6 se considera el punto de corte adecuado por su sensibilidad y especificidad^{245 130 131} También se aplicó la escala de gravedad CALL score (Comorbidity, Age, Lymphocyte, LDH, de sus siglas en ingles) que consiste en un nomograma que relaciona la leucopenia ($<1,0 \times 10^9/L$), la edad mayor de 60 años, la presencia de comorbilidades y las concentraciones de dímeros D y LDH, con el posible aumento del riesgo de agravarse la situación clínica de los pacientes con neumonía causada por COVID-19. Las puntuaciones de 4-6 se incluyen dentro de la clase A: bajo riesgo con probabilidad de progresión menor del 10%. De 7 a 9 puntos se incluyen dentro de la clase B: riesgo intermedio con una probabilidad de progresión del 10 al 40% y de 10 a 13 puntos correspondería a una clase C: alto riesgo de progresión con una probabilidad de más del 50% de progresar^{132,133}

Todos los pacientes fueron tratados con un protocolo uniforme desarrollado por consenso de los médicos del Servicio de Medicina Interna (Anexo 1). El tratamiento se individualizó para cada paciente. El oxígeno suplementario y los cuidados de apoyo se indicaron caso por caso. La enoxaparina (a dosis profiláctica, según el peso del individuo)

se indicó en todos los pacientes, a excepción de los que necesitaban anticoagulación completa debido a comorbilidades previas o posteriores.

Los pacientes con una relación saturación de oxígeno (medida por pulsioximetría) o $\text{SpO}_2/\text{FiO}_2 < 315$, y aquellos con elevación de reactantes de fase aguda (concentración sérica de ferritina $> 1000 \text{ ng/ml}$ o proteína C reactiva (PCR) $> 100 \text{ mg/dL}$), iniciaron tratamiento con dexametasona 6 mg IV una vez al día durante un máximo de 10 días o hasta el alta hospitalaria. En aquellos pacientes cuya hipoxemia no mejoró tras los corticosteroides, se añadió tocilizumab (80 mg/kg , máximo 600 mg), una dosis al día, pudiendo repetir una segunda dosis en las 12 – 24 h siguientes. Alternativamente y a juicio del médico responsable de cada enfermo, se añadía baricitinib.

Los criterios de exclusión para el uso de corticosteroides o tocilizumab fueron infección coexistente distinta de COVID-19; antecedentes de reacciones alérgicas graves a anticuerpos monoclonales; menos de $500 \text{ neutrófilos/mm}^3$ o menos de $50000 \text{ plaquetas/mm}^3$; alteración sintomática del tracto gastrointestinal que pudiera predisponer a los pacientes a una perforación intestinal; alteración grave de la función renal o hepática.

Los pacientes que precisaron ventilación mecánica invasiva por SDRA grave, definido como una frecuencia respiratoria de 30 o más respiraciones por minuto (rpm), necesidad de FiO_2 al 80% o más para mantener un nivel de SpO_2 del 90%, o una relación $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ inferior a 100 mm Hg , y con un buen estado funcional previo al ingreso hospitalario, fueron ingresados en la UCI.

Los enfermos fueron seguidos hasta el ingreso en UCI o muerte, o alta hospitalaria por resolución del cuadro clínico en aquellos que no ingresaron y que fueron revisados a los 14 días tras el alta hospitalaria.

6.6.- ESTUDIOS Y GESTIÓN DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS

6.6.1.- Determinaciones relativas a la infección por SARS CoV-2

El SARS-CoV-2 se confirmó mediante detección de ácidos nucleicos o detección rápida de antígenos en una muestra nasofaríngea, de esputo o secreción broncoalveolar.

- Para la detección del ARN del SARS-CoV-2 en el laboratorio se utilizó la técnica de RT-PCR en tiempo real, mediante el sistema multiplex (Allplex™ SARS-CoV-2 Assay, Seegene, Seúl, República de Corea) a partir de aspirado nasofaríngeo, hisopado nasofaríngeo, lavado broncoalveolar, hisopado orofaríngeo y esputo. Las muestras fueron tomadas con escobillones flocados de nylon e introducidos en medio de transporte universal (UTM) u otros suministrados por el laboratorio de Microbiología. La técnica Allplex™ SARS-CoV-2 permitió la amplificación y detección simultáneas de ácidos nucleicos objetivo en los genes E, RdRP, S y N, con control interno (IC, gen humano exógeno).
- El test de antígenos de SARS-CoV-2 se realizó mediante el test Panbio COVID-19 Ag Rapid Test Device (Abbott Diagnostics, Chicago, IL, EE.UU) que contiene una membrana revestida con anticuerpos anti-SARS-CoV-2. Se trata de una prueba rápida de diagnóstico in vitro para detección cualitativa del antígeno de SARS-CoV-2 en muestras de hisopado nasofaríngeo.
- Otros virus respiratorios, incluidos los de la *gripe A y B, el sincitial respiratorio, la parainfluenza y el adenovirus*, se excluyeron mediante film array, solicitado según el criterio del clínico responsable. Se obtuvieron cultivos de esputo o aspirados

endotraqueales al ingreso para la identificación de posibles bacterias u hongos causantes concomitantes, cuando estaban indicados, nuevamente a juicio del médico responsable.

6.6.2. - Determinación de parámetros inflamatorios e inmunes

6.6.2.1.-Determinacion de parámetros de rutina e inflamatorios generales

Las determinaciones de hemograma, coagulación, bioquímica sérica, creatinkinasa, proteína C reactiva, procalcitonina, troponina, ferritina y gasometría se realizaron aplicando los procedimientos generales del Laboratorio de Hematología y Bioquímica del Hospital.

6.6.2.2.-Determinacion de las concentraciones séricas de NETs

La cuantificación de los PMN formadores de NET (CD10+CD11b+Hist3cit+MPO+) se realizó mediante citometría de flujo en sangre periférica total, recogida en tubos de etilendiaminotetraacético (EDTA). Para la caracterización de los PMN, se analizó la expresión en membrana de CD10 (clon HI10a, BD Biosciences, San José, CA, EE.UU.) y CD11b (clon ICRF44, BD, San José CA, EE.UU.). Las células se fijaron y permeabilizaron con BD Cytotfix/ Cytoperm™ Fixation/ Permeabilization solution Kit with BD GolgiPlug™ (BD, San José CA, USA), siguiendo las recomendaciones del producto. A continuación, se incubaron las células con histona 3 humana anticitrulinada (Abcam, 5103; Cambridge, Reino Unido). Como anticuerpo secundario se utilizó Alexa Fluor 488 (Abcam). Se utilizaron isotipos de IgG como controles negativos.

6.6.2.3.- Determinación de las moléculas implicadas en la activación endotelial y plaquetaria

Las muestras de sangre, recogidas en tubos EDTA/ Vacutainer estériles, se centrifugaron (3500 g, 15 min) y el plasma/ suero, respectivamente, se almacenó a -70°C en tubos de polietileno libres de pirógenos (Biofreeze, Costar, EE.UU.) hasta el momento del análisis de la concentración plasmática/sérica de las moléculas. Las concentraciones de MPO y PF4 se determinaron mediante ELISA (R&D, Minneapolis, MN, EE.UU.). Las concentraciones de selectinas P y E, VCAM1 y VEGF se midieron mediante Luminex Human Discovery Assay (R&D, Minneapolis, MN, EE.UU.). La DNasa I se midió utilizando el Human deoxyribonuclease I, DNase-I ELISA Kit (Biomatik, Wilmington, Delaware, EE.UU.).

6.7.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos clínicos, analíticos e inflamatorios se codificaron y se introdujeron en una base de datos

Los resultados de las variables cuantitativas fueron expresados como mediana e intervalo intercuartiles. Las variables cualitativas se expresaron como números absolutos y porcentajes. La comparación de las variables cualitativas se realizó mediante la prueba de X² con corrección de Yates o mediante el test exacto de Fisher, cuando fuera necesario.

La comparación de las variables cuantitativas se realizó mediante ANOVA; cuando

no se cumplieran las condiciones de homogeneidad de la varianza se utilizaron los tests no paramétricos de Kruskal-Wallis y de la U de Mann-Whitney

La influencia de la asociación entre los parámetros cuantitativos determinados se evaluó mediante el coeficiente de correlación de Pearson o Spearman.

Se analizó la correlación las variables independientes anteriormente definidas con la evolución de la COVID-19, considerando como variables dependientes la necesidad de ingreso en UCI (ventilación invasiva) o muerte y el alta hospitalaria.

Se calculó un índice de propensión ("*propensity score*") para recibir el tratamiento indicado en el protocolo (corticoides +/- baricitinib +/- tocilizumab). Dicho índice de propensión fue estimado mediante una regresión logística primaria en la que la variable dependiente era recibir uno u otro de los tratamientos empleados y las variables dependientes fueron edad, género, enfermedades subyacentes (hipertensión, diabetes mellitus, obesidad), afectación pulmonar radiológica, SpO₂/FiO₂, y concentración de PCR, ferritina, relación polimorfonucleares/linfocitos y dímeros D. La capacidad discriminativa de cada modelo fue evaluada calculando el área bajo la curva (area under the receiver operating curve, AUROC).

Se realizó un análisis bivalente para comparar los parámetros clínicos y de laboratorio entre el grupo de controles sanos y los pacientes, y, en los pacientes, entre los supervivientes y los no supervivientes o ingresados en la UCI. Se utilizó el test de Chi-cuadrado y el test exacto de Fisher para la comparación de variables categóricas y el test U de Mann-Whitney para las variables continuas.

Las variables con valores de $p < 0,1$ en el análisis bivalente entre el grupo de supervivientes y el de no supervivientes o ingresados en la UCI, se incluyeron en el

modelo multivariante. Se utilizó la regresión de Cox para identificar las variables independientes asociadas con el resultado primario, siendo el tiempo el número de días desde el ingreso hasta el alta hospitalaria o el ingreso en la UCI/muerte. Se utilizó el método de Kaplan-Meier y el valor p de log-rank para comparar el tiempo hasta el alta hospitalaria con vida frente a los que murieron o necesitaron ingreso en la UCI.

Las posibles diferencias en las variables entre diferentes momentos evolutivos (Tb, Ta y T14a) se analizaron mediante la prueba de Wilcoxon.

Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0,05$. Todos los análisis se realizaron con el programa IBM SPSS Statistic 24 (SPSS Inc., Chicago, IL, EEUU).

6.7. ASPECTOS LEGALES Y ÉTICOS

El estudio se llevó a cabo de acuerdo con las recomendaciones éticas internacionales contenidas en la última versión de la Declaración de Helsinki (Fortaleza, 2013) y en la legislación española vigente en investigación biomédica (Ley 14/2007, de 3 de julio, de investigación biomédica). El proyecto fue presentado al Comité de Ética de Investigación (CEI) provincial de Cádiz y obtuvo su aprobación el 25 de marzo de 2021 (Anexo 2).

- Información y consentimiento: Todos los participantes fueron informados de la naturaleza, propósito y procedimientos del estudio y se les facilitó la hoja informativa y el correspondiente formulario de consentimiento revisado y aprobado por el CEI. Todos los sujetos participaron otorgaron su consentimiento informado antes del inicio de cualquier procedimiento del estudio. Dicho consentimiento, teniendo en cuenta las características propias de enfermos con COVID-19 se obtuvo por escrito o de forma oral ante testigo, quedando no obstante reflejado en la historia clínica. Posteriormente, cuando las circunstancias lo permitieron, se solicitó la confirmación del consentimiento por escrito a los pacientes que otorgaron su consentimiento de forma verbal ante testigos. No se produjo ninguna retirada del consentimiento en estos casos y todos confirmaron su consentimiento.
- Confidencialidad de los datos: Los datos personales se trataron, tal como se indicó en el protocolo, según lo dispuesto en la normativa vigente en materia de protección de protección de datos (Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento Europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 relativo a la protección de las personas físicas en lo

que respecta al tratamiento de datos personales y a la libre circulación de estos datos y por el que se deroga la Directiva 95/46/CE (Reglamento general de protección de datos) y Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales).

- Gestión de las muestras biológicas: Las muestras biológicas así como información asociada a las mismas se conservaron de forma codificada y se almacenaron durante el estudio en el Laboratorio de la Unidad de Investigación del H.U. Puerta del Mar. Tras finalizar el estudio las muestras se destruyeron o fueron cedidas al Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía, previo consentimiento informado específico para ello.

7.-RESULTADOS

7.1. Estadística descriptiva

Un total de 87 pacientes con neumonía por COVID-19 fueron admitidos en el Hospital Universitario Puerta del Mar de Cádiz, desde el 1 de Febrero de 2021 hasta Junio de 2021 y seleccionados para el estudio.

En las Tablas 2 y 3 se muestran las características basales.

Tabla 2. Características clínicas y terapéuticas basales de los controles sanos y de los pacientes hospitalizados por neumonía por SARS-CoV2.

Variable		Controles sanos (n=30)	Pacientes con neumonía por SARS-CoV-2 (n=87)	p
Edad (años)		56 (48-70)	56 (44-68)	0.568
Sexo varón (n,%)		18 (60)	54 (62)	1.000
Comorbilidad				
	Hipertensión arterial (n,%)	13 (43)	33 (38)	0,760
	Diabetes mellitus (n,%)	4 (13)	18 (21)	0,536
	Obesidad (Índice de masa corporal > 30 kg/m2) (n,%)	6 (20)	22 (25)	0,736
	Enfermedad cardiovascular (n, %)	3 (10)	16 (18)	0,431
	Tratamiento anticoagulante previo (n, %)	0 (0)	3 (3,4)	0,569
	Tratamiento antiagregante previo (n, %)	4 (13)	16 (18)	0,724

Tabla 3. Datos clínicos y analíticos basales de los controles sanos y de los pacientes con neumonía por SARS CoV-2.

Variable	Controles sanos (n=30)	Pacientes con neumonía por SARS-CoV-2 (n=87)	p
Tiempo desde el inicio de los síntomas hasta la admisión (días)		9 (7-11)	
SpO ₂ /FiO ₂		448 (405-462)	
Afectación radiológica de más de un lóbulo pulmonar (n,%)		65 (75)	
NEWS2 score			
NEWS2 (points)		3 (1-5)	
NEWS2 > 6 (n,%)		10 (12)	
Call Score			
Call Score (points)		9 (7-10)	
Call Score > 6 (n, %)		67 (77)	
CHA2DS2-VASc ≥ 1 (n, %)		56 (64)	
Escala WELLS > 4 (n, %)		2 (2)	
Polimorfonucleares neutrófilos (cél/mm ³)	3575 (2860-4250)	3990 (2810-5650)	0.178
Linfocitos (cél/mm ³)	1990 (1608-2418)	850 (660-1200)	<0.001
Ratio Neutrófilos-linfocitos	1.9 (1.5-2.4)	4.8 (3.0-6.6)	<0.001
Plaquetas (cél x 10 ³ /mm ³)	245 (217-316)	200 (161-230)	<0.001
Fibrinógeno (mg/l)	307 (265-381)	623 (472-733)	<0.001
Dímeros-D (mg/l)	382 (273-466)	547 (420-996)	<0.001
Lactato deshidrogenasa (U/l)	168 (146-184)	302 (226-375)	<0.001
Creatinina (mg/l)	0,77 (0,7-0,9)	0,82 (0,8-1)	0,046
Proteína C reactiva (mg/l)	2 (1-4)	79 (33-136)	<0.001
Ferritina (ng/ml)	78 (50-116)	484 (313-1014)	<0.001

Se detectaron valores incrementados de la relación polimorfonucleares/linfocitos y concentraciones más elevadas de LDH, fibrinógeno, dímeros D, PCR y ferritina en los pacientes en comparación con controles sanos; así como recuentos menores de linfocitos/mm³ en los pacientes con neumonía por SARS CoV-2 con respecto a los controles sanos.

La evaluación de NETs, mieloperoxidasa, DNAasa I y factores indicativos de activación endotelial y plaquetaria se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Parámetros basales relacionados con los PMN y variables indicativas de activación plaquetaria y endotelial en pacientes y controles sanos

Variable		Controles sanos (n=30)	Pacientes con Neumonía por SARS-CoV-2 (n=87)	p
Parámetros relativos a PMN				
	PMNs formadores de NETs (cél/mm ³)	324 (134-803)	2751 (1983-4261)	<0.001
	PMNs formadores de NETs (porcentaje of PMNs)	10 (4-25)	75 (65-89)	<0.001
	Mieloperoxidasa (ng/ml)	680 (499-1233)	869 (500-1500)	0.373
	DNAasa I (ng/ml)	8.8 (5.6-12.9)	6.1 (2.5-12.4)	0.079
Moléculas derivadas del endotelio				
	E-selectina (ng/ml)	31 (21-45)	33 (20-49)	0.765
	Molécula de adhesión celular vascular 1 (ng/ml)	989 (673-1224)	2440 (2269-4629)	<0.001
	Factor de crecimiento vascular endotelial (pg/ml)	105 (74-149)	146 (93-213)	0.036
Moléculas derivadas de plaquetas				
	Factor plaquetario 4 (ng/ml)	9589 (7910-12223)	8084 (6233-9704)	0.006
	P-selectina (ng/ml)	54 (43-58)	46 (32-58)	0.074

El número absoluto y el porcentaje de PMN que formaron NETs fue significativamente mayor en pacientes con COVID-19 que en los controles sanos. Los niveles séricos de MPO fueron similares en los pacientes y controles, así como los niveles de la enzima implicada en la eliminación de NETs, la DNAasa I. VCAM1 y VEGF, dos parámetros asociados con la activación endotelial, fueron significativamente mayores en pacientes con COVID-19. Se observó una concentración significativamente menor de PF4 y no significativa de P-selectina en pacientes con neumonía por SARS-CoV-2.

El análisis de correlación de Pearson detectó una correlación significativa entre el número absoluto de PMN que forman NETs y los parámetros clásicos implicados en el

pronóstico de estos pacientes: puntuación NEWS2, SpO2/ FiO2, NLR y niveles séricos de PCR o ferritina, aunque no con el dímero D (Figura 12).

El número absoluto de PMN que forman NETs y la concentración de VCAM1 también se correlacionaron significativamente. Sin embargo, no se detectó una correlación significativa entre el número absoluto de PMN que forman NETs y otros parámetros endoteliales o derivados plaquetarios (datos no mostrados). La puntuación del score NEWS2 se correlacionó con los niveles de VCAM1 (Figura 13).

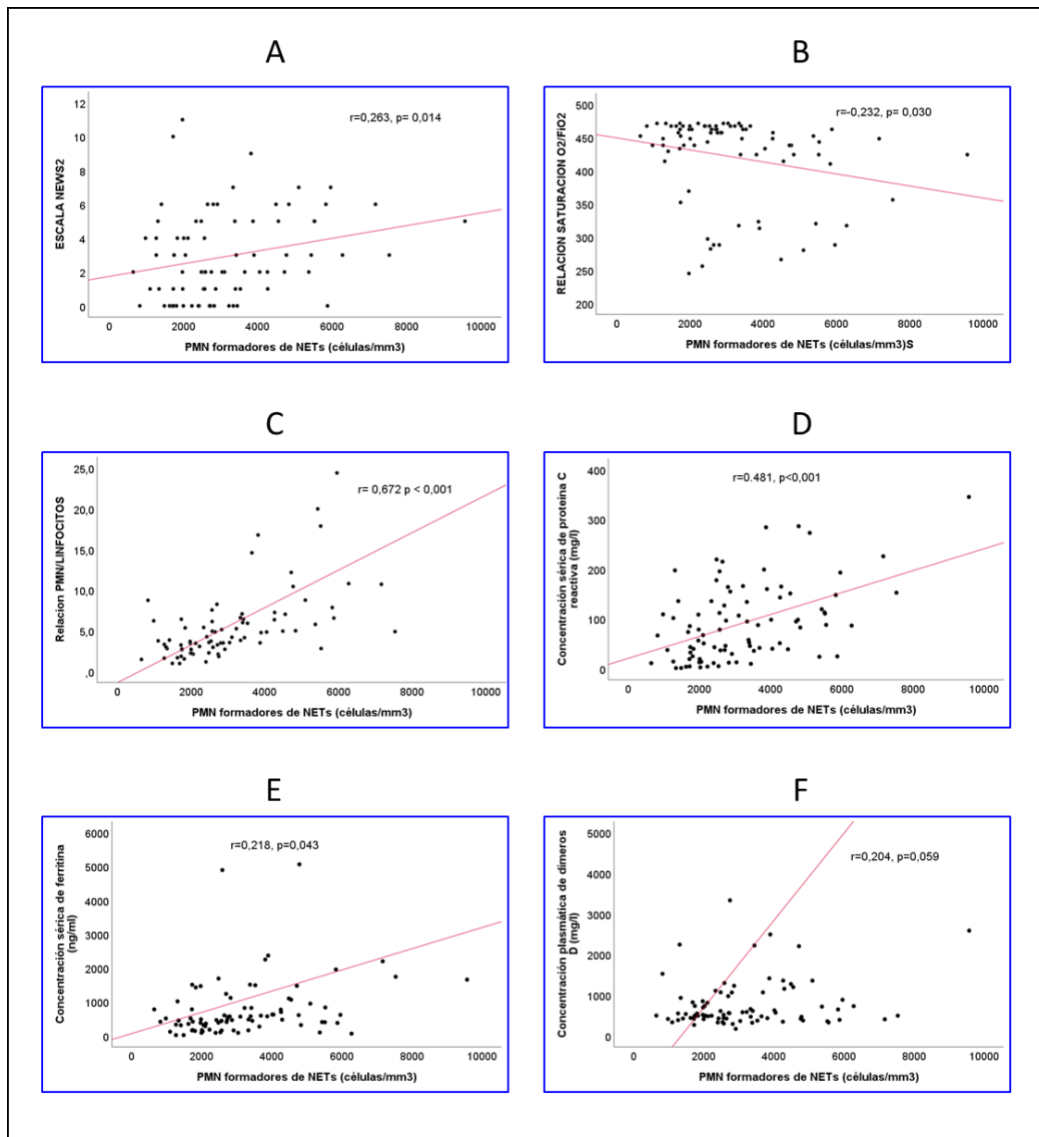


Figura 12. Correlación entre el número absoluto de PMN formadores de NETs y (A) NEWS2 score. (B) SpO2/FiO2. (C) Relación polimorfonucleares/linfocitos. (D) Concentraciones séricas de proteína C reactiva. (E) Concentraciones séricas de ferritina (F). Concentración plasmática de dímero-D.

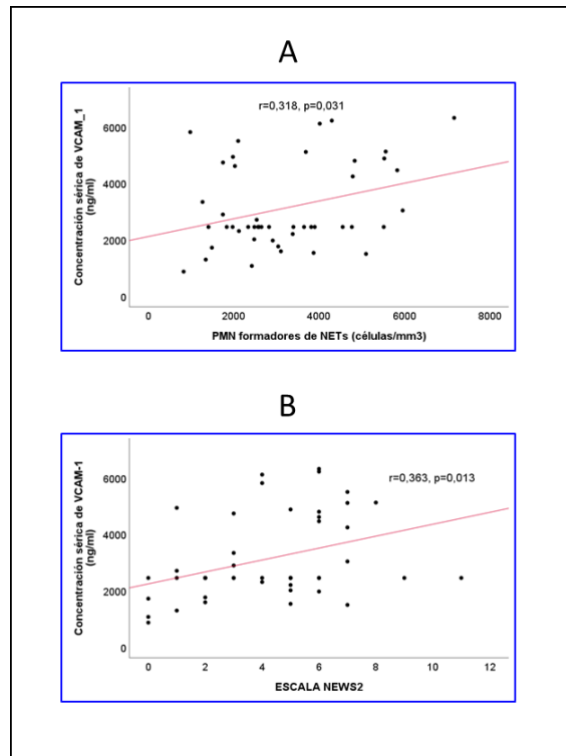


Figura 13. Correlación entre (A) Número absoluto de PMN formadores de NETs y concentración sérica de la molécula de adhesión vascular 1 (VCAM-1). (B) El índice NEWS2 y la concentración sérica de la molécula de adhesión vascular 1.

7.2. Tratamiento recibido.

Tras el ingreso, 15 enfermos (17%) fueron tratados sólo con medidas sintomáticas; 20 pacientes (23%) recibieron exclusivamente corticoides; 23, corticoides más baricitinib (26%); 11, corticoides más tocilizumab (13%), y 18, corticoides, baricitinib y tocilizumab (21%). Sin embargo, siete pacientes necesitaron ingreso en UCI (8%) por insuficiencia respiratoria progresiva y, finalmente, fallecieron.

Se asumió la posibilidad de que la evolución de los enfermos hubiera estado determinada por el tratamiento elegido. El tratamiento se basaba en un protocolo consensuado en el Servicio de Medicina Interna. A pesar de ello y puesto que la administración del mismo no era impositiva, sino que dependía de la decisión de cada

uno de los médicos implicados en la atención de estos pacientes, la probabilidad de recibir los diferentes tratamientos fue evaluada vía análisis de índices de propensión hacia un determinado fármaco o combinación, esto es, realizando análisis multivariante mediante regresión logística binaria para detectar aquellos factores presentes basalmente que diferencian las distintas ramas de tratamiento. Para dicho análisis, establecimos los siguientes grupos terapéuticos, considerados por pares:

- GRUPO A: No recibir tratamiento activo frente a recibir tratamiento activo (incluye corticoides +/- baricitinib +/- tocilizumab)
- GRUPO B: Recibir como tratamiento “corticoides + baricitinib” frente a recibir corticoides exclusivamente.
- GRUPO C: Recibir tratamiento con corticoides + tocilizumab (+/- baricitinib) frente a recibir tratamiento con corticoides exclusivamente

Se realizó en primer lugar un estudio bivariante para comparar las diferencias existentes a nivel basal entre los distintos grupos de tratamiento.

- **En el GRUPO A,** los factores asociados a recibir tratamiento activo en el análisis bivariante se presentan en la tabla 5.

TABLA 5. Características basales de los pacientes con neumonía por SARS-CoV-2, agrupados en función de que hubieran recibido o no tratamiento activo (corticoides, de modo aislado o asociados a otros fármacos).

	Pacientes con neumonía por SARS-CoV2 (n=87)		
Variable	No recibieron tratamiento inmunomodulador (n=15)	Recibieron tratamiento inmunomodulador (n=72)	p
Edad (años)	47 (39-51)	60 (45-69)	0,003
Sexo masculino (n,%)	9 (60)	45 (63)	1,000
Comorbilidad			
Hipertensión arterial (n,%)	3 (20)	30 (42)	0,149
Diabetes mellitus (n,%)	1 (7)	17 (24)	0,179
Obesidad (Índice de masa corporal > 30 kg/m2) (n,%)	1 (7)	21 (29)	0,102
Enfermedad cardiovascular (n, %)	1 (7)	15(21)	0,286
Factores clínicos y radiológicos			
Tiempo desde el inicio de los síntomas hasta la admisión (días)	8 (5-11)	9 (7-11)	0,314
SpO2/FiO2	467 (462-471)	438 (353-457)	<0,001
Afectación radiológica de más de un lóbulo pulmonar (n,%)	9 (60)	56 (78)	0,192
NEWS2 score			
NEWS2 (points)	0 (0-2)	3 (2-6)	<0,001
NEWS2 > 6 (n,%)	0 (0)	10 (14)	0,199
Parámetros analíticos			
Polimorfonucleares neutrófilos (cél/s/mm3)	2960 (2330-4070)	4410 (2980-5805)	0,023
Linfocitos (cél/s/mm3)	1010 (810-1940)	820 (615-1180)	0,024
Ratio Neutrófilos-Linfocitos	3,1 (1,5-4,2)	4,9 (3,3-7,0)	0,005
Fibrinógeno (mg/l)	430 (356-643)	643 (512-739)	0,016
Dímeros-D (mg/l)	491 (334-577)	567 (422-1067)	0,078
Lactato deshidrogenasa (U/l)	209 (170-267)	320 (262-380)	<0.001
Proteína C reactiva (mg/l)	24 (5-67)	91 (40-152)	<0.001
Ferritina (ng/ml)	154 (95-434)	582 (381-1205)	<0.001

El uso de corticoides fue independiente del género, de la presencia de comorbilidades (hipertensión arterial, diabetes mellitus, obesidad) o del patrón de la radiografía pulmonar al ingreso. Los sujetos que recibieron corticoides, con o sin otros fármacos, presentaban mayor edad y menor relación SpO2/FiO2, así como mayor valor

de la escala NEWS2 al ingreso, ratio polimorfonucleares/ linfocitos y concentraciones séricas de fibrinógeno, LDH, PCR y ferritina.

Tras realización de regresión logística binaria, se comprueba que las variables independientes que influyeron en el uso de corticoides fueron el valor de la escala NEWS2 (Exp(B) 2,133, IC95% 1,262-3,605, $p = 0,005$) y la concentración sérica de ferritina (Exp(B) 1,005, IC95% 1,002-1,009, $p = 0,006$).

El “*propensity score*” de recibir tratamiento activo según la escala NEWS2 y los valores de ferritina mostró un área bajo la curva de 0,922 (IC 95%: 0,853-0.991) (Figura 14).

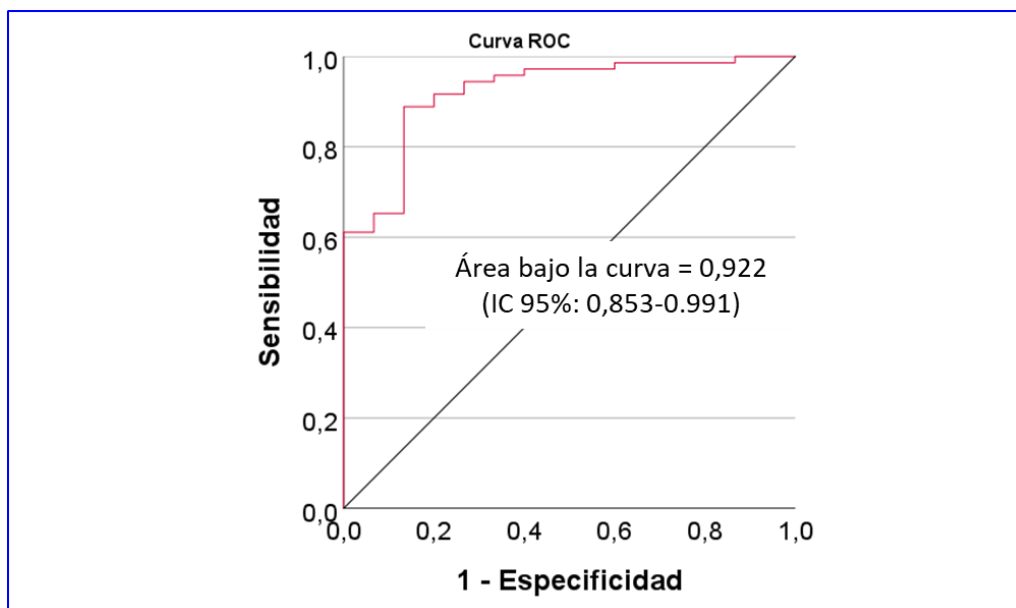


FIGURA 14. Curva COR. Propensity score para el uso de tratamiento inmunomodulador activo

- **En el GRUPO B**, el análisis de las características basales en los enfermos que recibieron corticoides más baricitinib, frente a aquellos que recibieron exclusivamente corticoides, mostró que aquellos que recibían baricitinib

presentaban una significativamente mayor concentración de PCR; el valor de la escala NEWS2 se aproximó a la significación estadística (Tabla 6).

TABLA 6. Características basales de los pacientes con neumonía por SARS-CoV-2, agrupados en función de que recibieran corticoides de modo aislado o corticoides más baricitinib.

Pacientes con neumonía por SARS-CoV2 (n=87)			
Variable	Recibieron tratamiento exclusivo con corticoides (n=20)	Recibieron tratamiento con corticoides + baricitinib (n=23)	p
Edad (años)	57 (43-67)	57 (45-71)	0,480
Sexo masculino (n,%)	13 (65)	13 (56)	0,756
Comorbilidad			
Hipertensión arterial (n,%)	6 (30)	11 (48)	0,349
Diabetes mellitus (n,%)	2 (10)	5 (22)	0,420
Obesidad (Índice de masa corporal > 30 kg/m2) (n,%)	2 (10)	4 (17)	0,669
Enfermedad cardiovascular (n, %)	4 (20)	4 (17)	1,000
Factores clínicos y radiológicos			
Tiempo desde el inicio de los síntomas hasta la admisión (días)	10 (8-11)	8 (7-11)	0,339
SpO2/FiO2	460 (434-466)	448 (438-462)	0,292
Afectación radiológica de más de un lóbulo pulmonar (n,%)	12 (60)	17 (74)	0,515
NEWS2 score			
NEWS2 (points)	2 (0-4)	2 (1-3)	0,458
NEWS2 > 6 (n,%)	0 (0)	1 (4)	1,000
Parámetros analíticos			
Polimorfonucleares neutrófilos (cél/mm3)	4220 (2585-5668)	3900 (2880-5730)	0,808
Linfocitos (cél/mm3)	1000 (750-1275)	820 (610-1180)	0,408
Ratio Neutrófilos-Linfocitos	3,8 (2,7-5,3)	5,2 (2,8-6,4)	0,197
Fibrinógeno (mg/l)	595 (405-662)	669 (549-775)	0,018
Dímeros-D (mg/l)	522 (412-1073)	505 (404-761)	0,801
Lactato deshidrogenasa (U/l)	265 (178-354)	306 (262-344)	0,141
Proteína C reactiva (mg/l)	37 (13-75)	88 (51-111)	0,003
Ferritina (ng/ml)	422 (313-757)	552 (385-1425)	0,189

Las concentraciones de fibrinógeno y de PCR se incluyeron en el análisis multivariante mediante regresión logística binaria; el modelo que mejor define la

probabilidad de empleo de baricitinib fue el que incluye exclusivamente la concentración sérica de PCR (Exp(B) 1,019, IC95% 1,004-1,035, $p = 0,015$).

El índice de propensión para recibir tratamiento con corticoides más baricitinib atendiendo a la regresión logística previa mostró un área bajo la curva de 0,770 (IC95% , 0,621-0,918) (Figura 15).

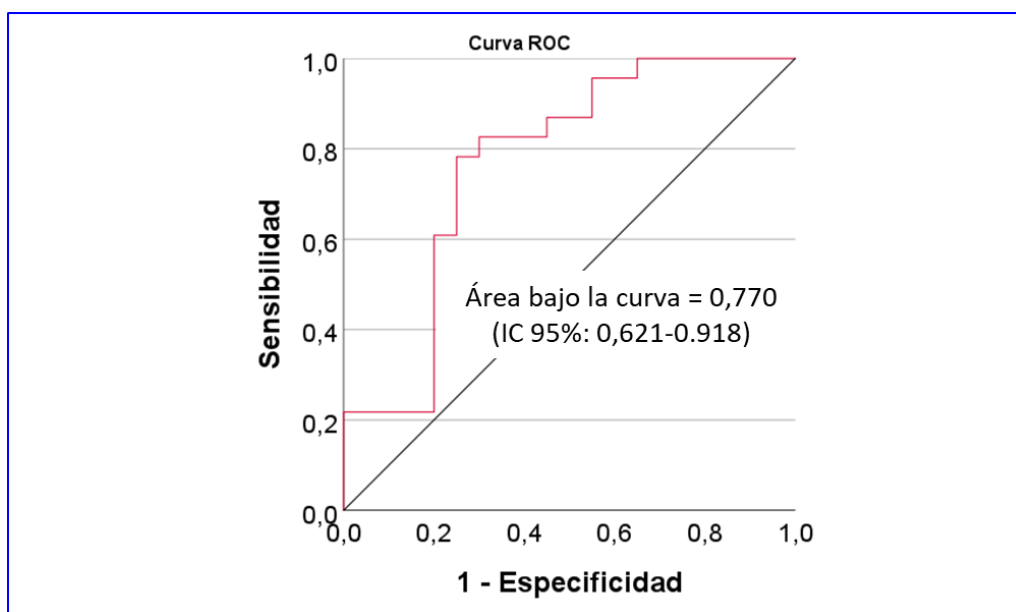


FIGURA 15. Curva COR. Propensity score para el tratamiento con corticoides + baricitinib.

- Los enfermos del GRUPO C fueron aquellos que recibían tocilizumab. El análisis de las características basales en los enfermos que recibieron corticoides (+/- baricitinib) más tocilizumab, frente a aquellos que recibieron corticoides con o sin baricitinib, mostró que aquellos que recibían tocilizumab presentaban con mayor frecuencia obesidad, tenían un valor significativamente mayor en la escala NEWS2 y en la relación PMN/linfocitos y mayores concentraciones de PCR y ferritina, al tiempo que una menor relación SpO2/FiO2 (Tabla 7).

TABLA 7. Características basales de los pacientes con neumonía por SARS-CoV-2, agrupados en función de que recibieron tocilizumab frente a aquellos que sólo recibieron corticoides (con o sin baricitinib).

Pacientes con neumonía por SARS-CoV2 (n=87)			
Variable	Recibieron tratamiento con corticoides con/sin baricitinib (n=43)	Recibieron tratamiento con corticoides + tocilizumab (con/sin baricitinib) (n=29)	p
Edad (años)	57 (44-68)	63 (49-70)	0,337
Sexo masculino (n,%)	26 (61)	19 (66)	0,805
Comorbilidad			
Hipertensión arterial (n,%)	17 (40)	13 (45)	0,808
Diabetes mellitus (n,%)	7 (16)	10 (35)	0,094
Obesidad (Índice de masa corporal > 30 kg/m2) (n,%)	6 (14)	15 (52)	0,001
Enfermedad cardiovascular (n, %)	8 (19)	7 (24)	0,571
Factores clínicos y radiológicos			
Tiempo desde el inicio de los síntomas hasta la admisión (días)	9 (7-11)	10 (8-12)	0,279
SpO2/FiO2	457 (438-462)	410 (288-427)	<0,001
Afectación radiológica de más de un lóbulo pulmonar (n,%)	29 (67)	27 (93)	0,011
NEWS2 score			
NEWS2 (points)	2 (1-3)	6 (5-7)	<0,001
NEWS2 > 6 (n,%)	1 (2)	9 (31)	<0,001
Parámetros analíticos			
Polimorfonucleares neutrófilos (cél/mm3)	3910 (2750-5690)	5030 (3365-6540)	0,177
Linfocitos (cél/mm3)	840 (630-1200)	750 (595-1000)	0,153
Ratio Neutrófilos-Linfocitos	4,8 (2,7-6,4)	5,0 (3,5-8,3)	0,044
Fibrinógeno (mg/l)	643 (496-723)	654 (516-759)	0,692
Dímeros-D (mg/l)	505 (413-941)	656 (427-1175)	0,186
Lactato deshidrogenasa (U/l)	299 (231-344)	378 (306-481)	<0,001
Proteína C reactiva (mg/l)	56 (33-98)	148 (83-207)	<0,001
Ferritina (ng/ml)	462 (357-833)	626 (491-1582)	0,065

Los valores de los parámetros con significación estadística en el análisis bivalente y el tratamiento con baricitinib se incluyeron en el análisis multivariante mediante regresión logística binaria; el modelo que mejor define la probabilidad de empleo de tocilizumab fue el que incluye la puntuación en el score NEWS2 (Exp(B) 2,122, IC95%

1,452-3,102, $p < 0,001$) y la concentración sérica de PCR (Exp(B) 1,015, IC95% 1,003-1,027, $p = 0,012$).

El “*propensity score*” de recibir tratamiento con corticoides (+/- baricitinib) y tocilizumab atendiendo a la regresión logística previa mostró un área bajo la curva de 0,917 (IC95% 0,848-0,985) (Figura 16).

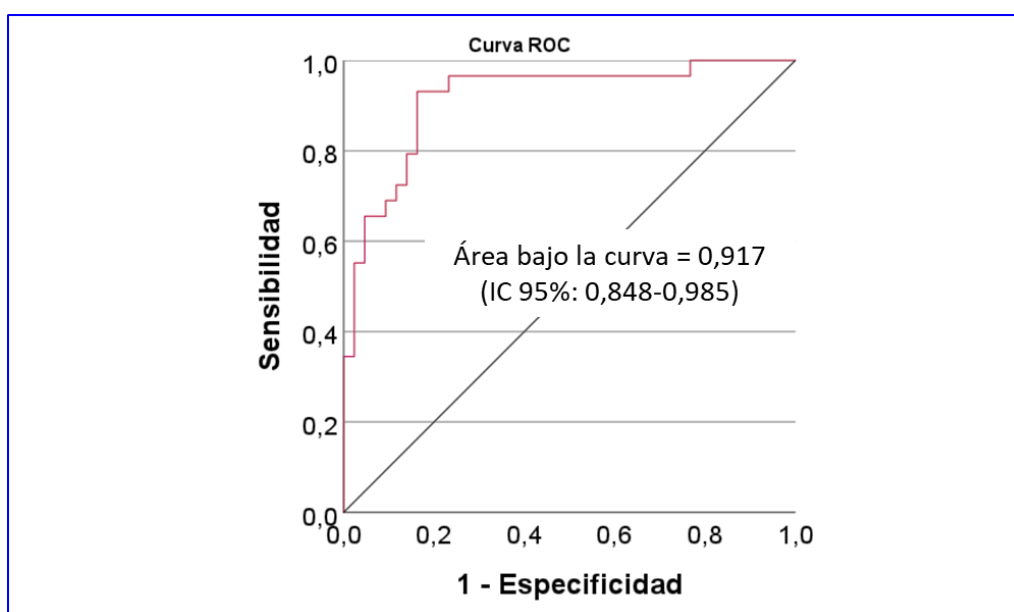


FIGURA 16. Curva COR. Propensity score para el tratamiento con corticoides (+/- baricitinib) y tocilizumab.

7.3. Evolución de los parámetros gasométricos y analíticos de los enfermos que sobrevivieron

Se realizó el análisis evolutivo de los parámetros analíticos y gasométricos de aquellos que sobrevivieron sin precisar ingreso en UCI.

La mediana de tiempo de hospitalización fue de 7,0 (4,0-9,0) días en el grupo que no precisó ingreso en UCI, globalmente considerado. La estancia hospitalaria de cada uno de los grupos considerados en función de la terapéutica se representa en la tabla 8.

TABLA 8. Tiempo de estancia hospitalaria de los enfermos con neumonía COVID 19 que sobrevivieron, en función de las necesidades de distintos tipos de tratamiento.

Grupo terapéutico	Estancia hospitalaria (días)
No tratamiento inmunomodulador (n=15)	4 (2-7)
Tratamiento corticoides exclusivo (n=20)	6 (4-9)
Tratamiento corticoides + baricitinib (n=22)	8 (5-9)
Tratamiento corticoides (+/- baricitinib) + tocilizumab (n=23)	9 (8-15)
Global (n=80)	7 (4-9)

Existió una diferencia estadísticamente significativa ($p<0,05$) en el tiempo de estancia hospitalaria entre los enfermos que no precisaron tratamiento inmunomodulador y el resto de grupos. Y, asimismo, entre los enfermos que fueron tratados con tocilizumab y los otros dos grupos en tratamiento inmunomodulador ($p<0,05$). No se detectaron diferencias significativas al comparar el tiempo de hospitalización entre los enfermos que recibieron exclusivamente corticoides y los que recibieron corticoides + baricitinib ($p=0,218$).

Globalmente considerados y con independencia del tratamiento recibido, la evolución de los parámetros gasométricos y analíticos es la que se presenta en la Tabla 9.

Tabla 9. Evolución de parámetros analíticos y gasométricos de los pacientes ingresados por neumonía COVID que sobrevivieron (n=80).

Parámetro	Basal (Tb)	Al alta hospitalaria (Ta)	14 días tras el alta hospitalaria (T14a)	p Tb vs Ta	p Tb vs 14Ta	p Ta vs T14a
SpO ₂ /FiO ₂	448 (417-466)	465 (457-467)	462 (457-467)	<0,001	<0,001	0,251
Factores relacionados con la activación de neutrófilos						
Leucocitos/mm ³	5515 (4273-7183)	7580 (5940-9950)	6630 (4960-8330)	<0,001	<0,001	0,008
Linfocitos/mm ³	855 (638-1208)	1960 (1440-2880)	1830 (1340-2380)	<0,001	<0,001	0,010
Neutrófilos/mm ³	3845	4440	3790	0,087	0,245	<0,001

	(2810-5585)	(3130-6540)	(2870-5000)			
Ratio Neutrófilos-Linfocitos	4,2 (2,8-6,5)	2,3 (1,5-3,5)	2,1 (1,4-2,8)	<0,001	<0,001	0,351
PMN formadores de NETs (% PMN)	76 (65-89)	25 (12-50)	18 (8-36)	<0,001	<0,001	0,012
PMN formadores de NETs (células/mm3)	2725 (1974-4013)	1270 (590-2305)	702 (270-1305)	<0,001	<0,001	0,003
Mieloperoxidasa (ng/ml)	869 (500-1500)	605 (456-1475)	340 (258-500)	0,278	<0,001	<0,001
DNAse I (ng/ml)	6 (3-12)	24 (12-36)	13 (7-24)	<0,001	<0,001	<0,001
Otros factores relacionados con la inflamación						
LDH (UI/l)	295 (221-362)	220 (185-268)	178 (163-205)	<0,001	<0,001	<0,001
Proteína C reactiva (mg/l)	79 (30-136)	5 (2-8)	1 (0-3)	<0,001	<0,001	<0,001
Ferritina (ng/ml)	481 (313-997)	446 (277-930)	201 (84-348)	0,374	<0,001	<0,001
Factores relacionados con la activación plaquetaria, endotelial y de la coagulación						
Plaquetas x 10 ³ /mm3	195 (161-232)	288 (230-382)	206 (166-265)	<0,001	0,556	<0,001
Factor plaquetario 4 (ng/ml)	7993 (6198-9697)	10792 (7128-14524)	7423 (4731-9611)	<0,001	0,053	<0,001
P-selectina (ng/ml)	45 (31-59)	59 (49-86)	49 (42-61)	<0,001	0,893	0,081
E-selectina (ng/ml)	32 (19-47)	29 (21-41)	35 (22-46)	0,313	0,214	0,851
Molécula de adhesión celular vascular 1 (ng/ml)	2440 (2002-2882)	2023 (1224-2441)	1390 (1070-2045)	<0,001	<0,001	0,002
Factor de crecimiento vascular endotelial (pg/ml)	146 (88-194)	132 (92-285)	97 (64-125)	0,009	<0,001	<0,001
Fibrinógeno (mg/l)	633 (465-732)	352 (283-430)	311 (240-372)	<0,001	<0,001	0,015
Dímeros-D (mg/l)	533 (415-973)	457 (299-736)	334 (250-791)	0,001	<0,001	0,085

Tras el tratamiento aplicado, los pacientes presentaron una mejoría significativa de SpO₂/FiO₂, hasta valores de normalidad al alta, de modo que no se detectan nuevas diferencias entre el momento del alta y el de 14 días tras ella.

Mientras que no se observaron modificaciones significativas de neutrófilos, el recuento de linfocitos, disminuido en el momento del ingreso, se incrementó significativamente en los valores obtenidos al alta de los enfermos. De ahí que la relación neutrófilos/linfocitos, muy incrementada inicialmente, disminuyó significativamente en el momento del alta.

Es significativo el hecho de la gran proporción de PMN que forman NETs en el momento del ingreso, proporción que disminuye significativamente cuando se comparan al alta de los enfermos y continúa decreciendo 14 días más tarde. Y, coincidiendo con este hecho, un incremento del enzima que los degrada (DNAasa I). La concentración de otros productos generados por el neutrófilo, como mieloperoxidasa, no se modifica significativamente durante la evolución.

Otros parámetros inflamatorios (LDH, proteína C reactiva) presentan un curso paralelo al de los neutrófilos formadores de NETs. La evolución de la concentración de ferritina es diferente: mientras que no se detectan modificaciones significativas entre ingreso y alta, se observa una disminución significativa cuando se comparan los valores previos con aquellos detectados a los 14 días.

Las plaquetas y sus productos derivados (PF4 y P-selectina) se incrementan significativamente respecto a los valores basales en el momento del alta, disminuyendo a continuación.

Fibrinógeno y dímeros D siguen cursos asimismo paralelos a los de los elementos inflamatorios, con disminuciones significativas de sus concentraciones en el momento del alta, e incluso tras 14 días, con respecto a los valores observados en el ingreso.

Y finalmente, mientras que las concentraciones de E-selectina, como parámetro de activación endotelial precoz, no se modifican durante la evolución, los de moléculas

de adhesión fuerte (VCAM1) o de angiogénesis (VEGF), incrementadas en el momento del ingreso, disminuyen significativamente al alta e incluso decrecen aún más a los 14 días tras ésta.

Una representación gráfica de algunos de los parámetros más significativos del estudio en función de la evolución de los mismos se presenta en las figuras 17 a 21.

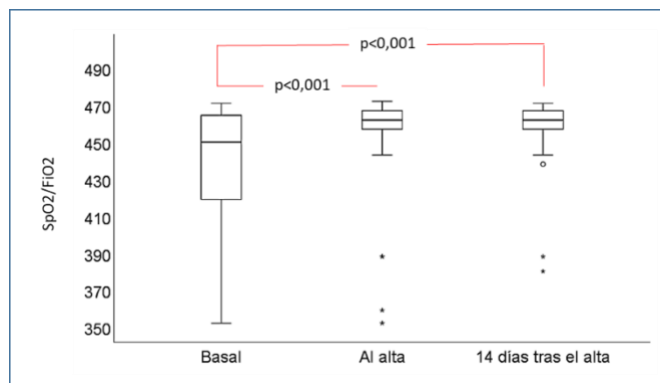


Figura 17. Evolución de la relación SpO2/FiO2 en enfermos con neumonía por SARS-CoV2 al ingreso (Basal) y alta hospitalaria y tras 14 días de esta última.

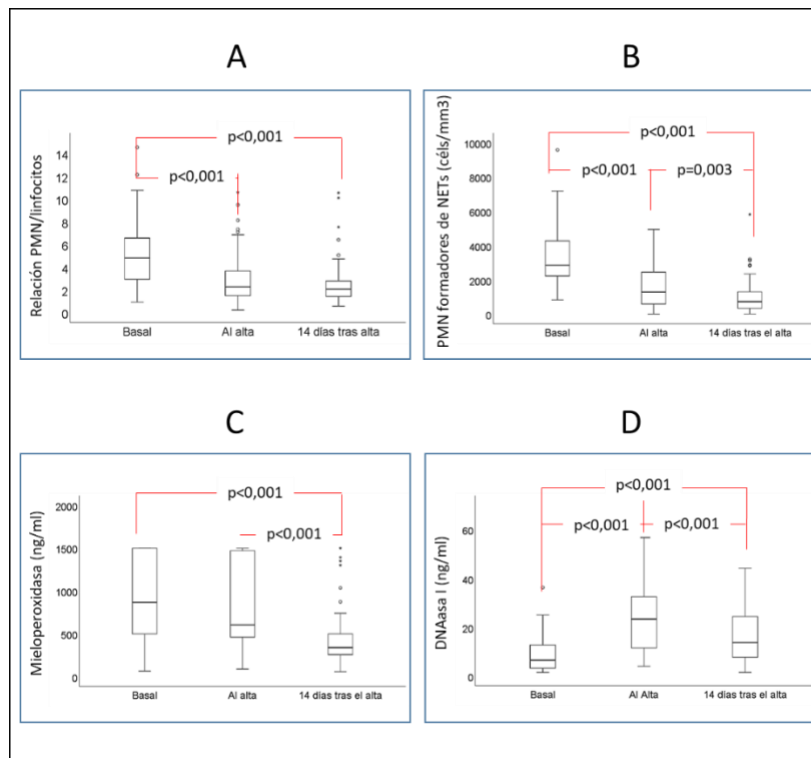


Figura 18. Evolución de la relación polimorfonucleares neutrófilos/linfocitos (A), neutrófilos formadores de NETs (B) y concentraciones séricas de mieloperoxidasa (C) y DNAasa I (D) en enfermos con neumonía por SARS-CoV2 al ingreso (Basal) y alta hospitalaria y tras 14 días de esta última.

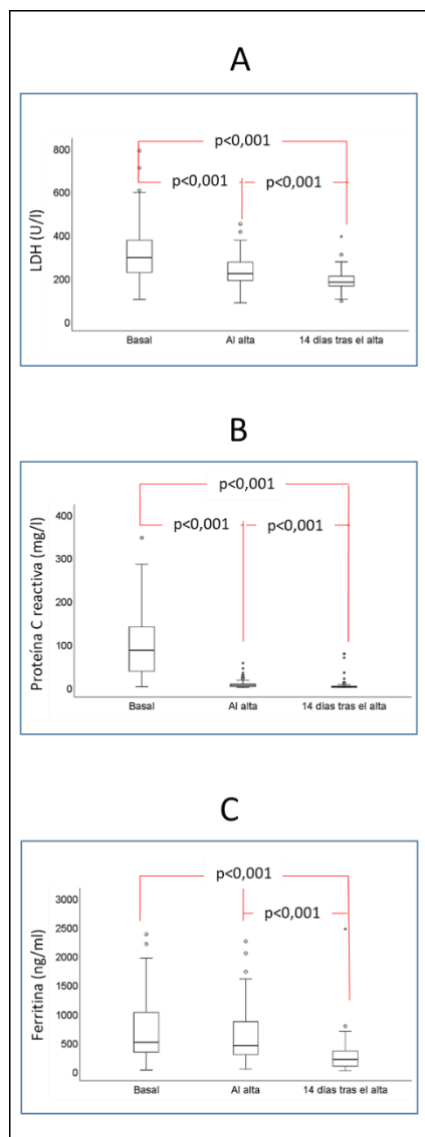


Figura 19. Evolución de la concentración sérica de láctico deshidrogenasa (LDH) (A), proteína C reactiva (B) y ferritina (C) en enfermos con neumonía por SARS-CoV2 al ingreso (Basal) y alta hospitalaria y tras 14 días de esta última.

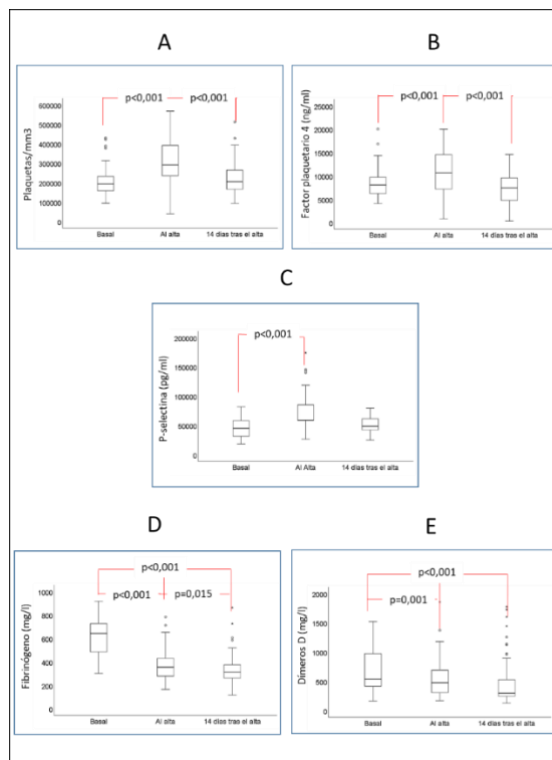


Figura 20. Evolución del recuento plaquetario (A) y de las concentraciones séricas de factor plaquetario 4 (B), P selectina (C) y plasmáticas de fibrinógeno (D) y dímeros D (E) en enfermos con neumonía por SARS-CoV2 al ingreso (Basal) y alta hospitalaria y tras 14 días de esta última.

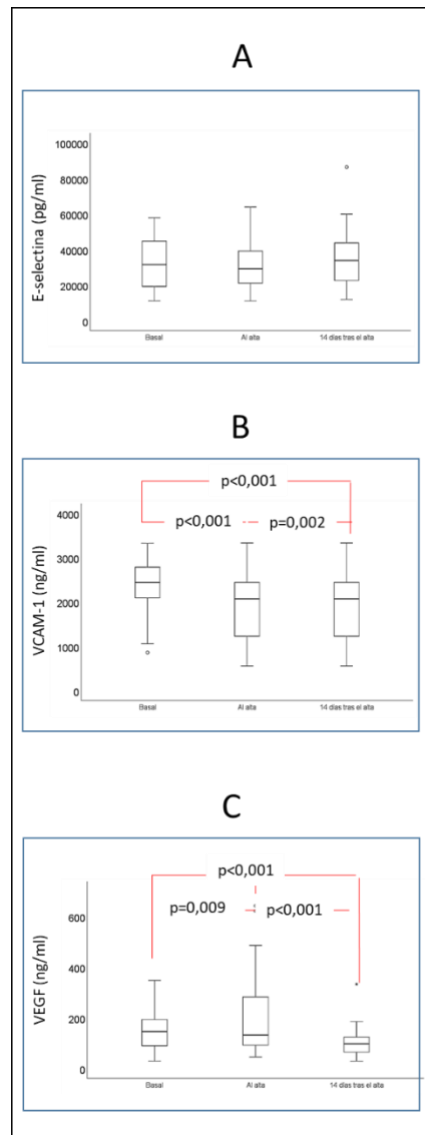


Figura 21. Evolución de la concentración sérica de E-selectina (A), molécula de adhesión celular vascular 1 –VCAM 1- (B) y factor de crecimiento vascular endotelial (C) en enfermos con neumonía por SARS-CoV2 al ingreso (Basal) y alta hospitalaria y tras 14 días de esta última.

Se indica a continuación la evolución de los diversos parámetros estudiados en función del tratamiento recibido. En los apartados siguientes se indicará, por un lado, los valores de las diferentes variables al ingreso, alta y catorce días tras el alta; y, por otro, las modificaciones agudas (antes de instaurar el tratamiento y 48 horas tras ello) de determinados parámetros.

7.3.1. Evolución de los parámetros gasométricos y analíticos de los enfermos que sobrevivieron y no precisaron tratamiento esteroideo.

La evolución de los parámetros, considerados al ingreso, alta y 14 días tras ésta, de los enfermos que no recibieron corticoides y sobrevivieron se presenta en la tabla 10.

Tabla 10. Evolución de los parámetros gasométricos y analíticos de los enfermos con neumonía por SARS-CoV2 que no recibieron tratamiento con corticoides y sobrevivieron (n=15).

Parámetro	Basal (Tb)	Al alta hospitalaria (Ta)	14 días tras el alta hospitalaria (T14a)	p Tb vs Ta	p Tb vs 14Ta	p Ta vs T14a
SpO ₂ /FiO ₂	467 (462-471)	467 (462-471)	467 (462-467)	0,823	0,572	0,713
Factores relacionados con la activación de neutrófilos						
Leucocitos/mm ³	5190 (4080-6350)	5010 (3980-6870)	5650 (4590-6880)	0,600	0,041	0,293
Linfocitos/mm ³	1010 (810-1940)	1660 (1440-1960)	1720 (1460-2360)	0,003	0,001	0,478
Neutrófilos/mm ³	2960 (2330-4070)	2900 (1440-1960)	2900 (2390-3800)	0,311	0,875	0,410
Ratio Neutrófilos- Linfocitos	3,1 (1,5-4,2)	1,6 (1,2-2,1)	1,5 (1,4-2,4)	0,009	0,009	0,233
PMN formadores de NETs (% PMN)	76 (65-86)	50 (21-76)	30 (6-40)	0,062	0,001	0,041
PMN formadores de NETs (células/mm ³)	2228 (1627-2735)	1282 (798-1934)	734 (166-1234)	0,075	0,001	0,091
Mieloperoxidasa (ng/ml)	872 (500-1500)	500 (438-1321)	307 (239-462)	0,284	0,002	0,008
DNAse I (ng/ml)	11 (4-16)	15 (12-28)	16 (13-31)	0,003	0,015	0,969
Otros factores relacionados con la inflamación						
LDH (UI/l)	209 (170-267)	193 (153-216)	168 (148-183)	0,100	0,003	0,221
Proteína C reactiva (mg/l)	24 (5-66)	7 (2-16)	1 (0-3)	0,003	0,001	0,003
Ferritina (ng/ml)	154 (94-433)	222 (104-433)	86 (55-156)	0,683	0,001	0,001
Factores relacionados con la activación plaquetaria, endotelial y de la coagulación						
Plaquetas x 10 ³ /mm ³	161 (136-263)	220 (172-288)	227 (198-318)	0,004	0,008	0,363

Factor plaquetario 4 (ng/ml)	7844 (6328-9704)	8479 (6982-10158)	7705 (5295-10774)	0,182	0,807	0,422
P-selectina (ng/ml)	50 (45-68)	75 (49-82)	56 (42-71)	0,273	0,893	0,081
E-selectina (ng/ml)	41 (22-47)	28 (24-36)	37 (28-45)	0,465	0,500	0,043
Molécula de adhesión celular vascular 1 (ng/ml)	1707 (1219-2222)	1233 (821-1838)	1066 (862-1320)	0,068	0,043	0,225
Factor de crecimiento vascular endotelial (pg/ml)	117 (54-202)	94 (71-242)	78 (48-220)	0,465	0,686	0,500
Fibrinógeno (mg/l)	430 (356-643)	356 (313-532)	310 (278-359)	0,016	0,001	0,023
Dímeros-D (mg/l)	491 (334-577)	318 (277-694)	296 (261-440)	0,239	0,005	0,363

Los pacientes que no recibieron tratamiento inmunomodulador no presentaron variaciones significativas en la oxigenación. El resto de parámetros estudiados, con excepción de las concentraciones de VEGF, que no presentaron modificaciones significativas, presentó un comportamiento similar al anteriormente descrito para la serie global de enfermos.

7.3.2. Evolución de los parámetros gasométricos y analíticos de los enfermos que sobrevivieron y fueron tratados con corticoides, sin ningún otro inmunomodulador.

Se evaluó la influencia del tratamiento con corticoides sobre varios de los factores analizados en este estudio a partir de medidas tomadas previo al mismo y 48-72 horas tras su administración. Los resultados se resumen en la tabla 11 y figura 22.

Tabla 11. Evolución de los parámetros gasométricos y analíticos, de modo agudo –basal y tras 48 horas de la administración, de los enfermos que recibieron corticoides, como tratamiento inmunomodulador aislado, y sobrevivieron (n=20).

Variable	Pacientes con neumonía por SARS-CoV-2 que recibieron tratamiento con corticoides exclusivamente (n=20)		p
	Basal	Tras 48 horas de la administración	
SpO2/FiO2	460 (434-466)	457 (400-467)	0,940
Leucocitos (céls/mm3)	6090 (3457-7715)	8545 (6505-10573)	0,001
Polimorfonucleares neutrófilos (céls/mm3)	4220 (2585-5667)	5655 (4735-7660)	0,026
Linfocitos (céls/mm3)	1000 (750-1275)	1795 (795-2258)	0,002
Ratio Neutrófilos-Linfocitos	3,7 (2,7-5,3)	3,9 (2,5-6,3)	0,940
PMNs formadores de NETs (porcentaje de PMNs)	74 (13-75)	48 (26-61)	0,005
Lactato deshidrogenasa (LDH)	265 (178-354)	220 (167-251)	0,013
Proteína C reactiva (mg/l)	37 (13-75)	8 (3-36)	0,002
Ferritina (ng/ml)	421 (313-757)	328 (290-774)	0,227
Plaquetas (céls x 10 ³ /mm3)	209 (161-260)	261 (205-319)	<0,001
Fibrinógeno (mg/l)	595 (405-662)	399 (327-489)	0,002
Dímeros-D (mg/l)	522 (411-1072)	375 (291-563)	0,002

Es destacable el hecho de que, aunque mejoran múltiples parámetros asociados a inflamación (proporción de PMN que forman NETs, concentraciones séricas de LDH y PCR) y de la coagulación (fibrinógeno, dímeros D), no se modifica significativamente la relación SpO2/FiO2, que ya era muy aceptable con anterioridad al inicio del tratamiento.

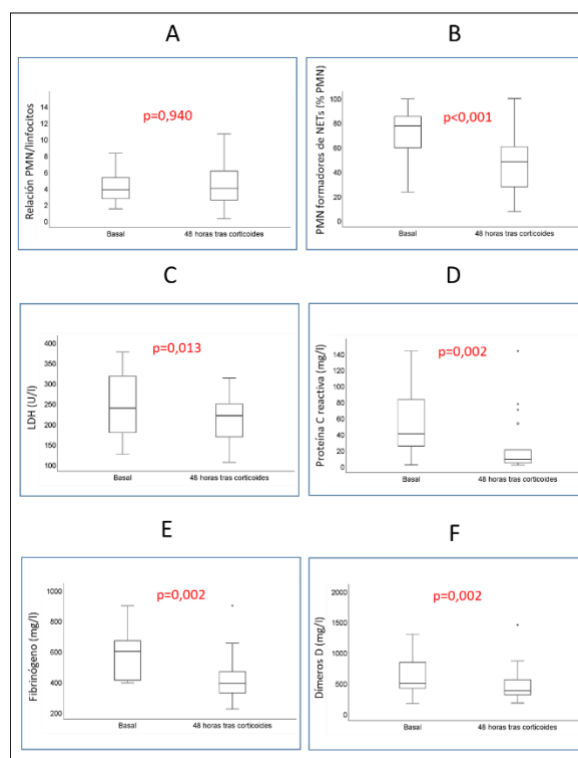


Figura 22. Evolución tras 48 horas de la instauración de tratamiento corticoideo de la relación polimorfonucleares/linfocitos (A), proporción de polimorfonucleares que forman NETs (B), concentraciones séricas de láctico-deshidrogenasa (LDH) (C) y proteína C reactiva (PCR) (D) y plasmáticas de fibrinógeno (E) y dímero D (F).

La evolución de los parámetros, considerados al ingreso, alta y 14 días tras ésta, de los enfermos que recibieron exclusivamente corticoides como tratamiento inmunomodulador y sobrevivieron se presenta en la tabla 12.

Tabla 12. Evolución de los parámetros gasométricos y analíticos de los enfermos con neumonía por SARS-CoV2 que recibieron exclusivamente tratamiento inmunomodulador con corticoides y sobrevivieron (n=20).

Parámetro	Basal (Tb)	Al alta hospitalaria (Ta)	14 días tras el alta hospitalaria (T14a)	p Tb vs Ta	p Tb vs 14Ta	p Ta vs T14a
SpO2/FiO2	460 (434-466)	457 (452-467)	464 (457-467)	0,054	0,029	0,042
Factores relacionados con la activación de neutrófilos						
Leucocitos/mm3	6090 (3457-7715)	8545 (6360-12632)	7495 (6615-9578)	<0,001	0,003	0,020
Linfocitos/mm3	1000	2065	1845	<0,001	<0,001	0,811

	(750-1275)	(1595-2560)	(1443-2383)			
Neutrófilos/mm3	4220 (2585-5667)	5565 (3802-9300)	4520 (4112-6655)	0,016	0,215	0,085
Ratio Neutrófilos-Linfocitos	3,7 (2,7-5,3)	2,5 (2,0-4,6)	2,4 (2,0-3,6)	0,084	0,018	0,446
PMN formadores de NETs (% PMN)	74 (13-75)	18 (11-49)	12 (4-43)	0,002	0,002	0,875
PMN formadores de NETs (células/mm3)	2647 (2014-3900)	1098 (437-2889)	863 (185-1699)	0,015	0,003	0,609
Mieloperoxidasa (ng/ml)	872 (500-1500)	500 (438-1264)	330 (259-496)	0,203	0,004	0,007
DNAse I (ng/ml)	4 (2-10)	25 (8-27)	7 (4-17)	0,008	0,059	0,015
Otros factores relacionados con la inflamación						
LDH (UI/l)	265 (178-354)	216 (160-275)	179 (173-190)	0,019	0,005	0,053
Proteína C reactiva (mg/l)	37 (13-75)	4 (2-11)	2 (0-4)	<0,001	<0,001	0,149
Ferritina (ng/ml)	421 (313-757)	404 (284-833)	222 (106-352)	0,445	0,004	0,006
Factores relacionados con la activación plaquetaria, endotelial y de la coagulación						
Plaquetas x 10 ³ /mm3	209 (161-260)	278 (241-333)	241 (200-299)	0,001	0,306	0,117
Factor plaquetario 4 (ng/ml)	7340 (5440-8679)	8479 (6982-10158)	8308 (3708-11888)	0,004	0,859	0,004
P-selectina (ng/ml)	38 (27-55)	59 (38-81)	48 (40-57)	0,013	0,114	0,059
E-selectina (ng/ml)	27 (19-55)	29 (21-46)	27 (18-48)	0,139	0,445	0,959
Molécula de adhesión celular vascular 1 (ng/ml)	2440 (1622-2661)	2311 (1362-2440)	1342 (1126-1683)	0,028	0,012	0,008
Factor de crecimiento vascular endotelial (pg/ml)	139 (90-204)	133 (92-241)	113 (51-147)	0,169	0,028	0,017
Fibrinógeno (mg/l)	595 (405-662)	384 (327-416)	334 (312-470)	0,002	0,002	0,649
Dímeros-D (mg/l)	522 (411-1072)	332 (270-588)	511 (285-998)	<0,001	0,237	0,173

Los pacientes que recibieron tratamiento exclusivamente con corticoides eran pacientes con una media de edad de 57 años (43-67), con una gravedad medida en la

escala NEWS 2 de media de 2 puntos (0-4). Los parámetros de oxigenación, inflamatorios -derivados de activación de neutrófilos o no-, plaquetarios, de coagulación o endoteliales fueron similares a los anteriormente descritos para la serie global de enfermos.

7.3.3. Evolución de los parámetros gasométricos y analíticos de los enfermos que sobrevivieron y fueron tratados con corticoides más baricitinib.

Se evaluó la influencia del tratamiento corticoideo más baricitinib sobre varios de los factores analizados en este estudio a partir de medidas tomadas previo al mismo y 48-72 horas tras su administración. Los resultados se resumen en la tabla 13 y figura 23.

Tabla 13. Evolución de los parámetros gasométricos y analíticos, de modo agudo –basal y tras 48 horas de la administración, de los enfermos que recibieron corticoides + baricitinib, como tratamiento inmunomodulador, y sobrevivieron (n=22).

Variable	Pacientes con neumonía por SARS-CoV-2 que recibieron tratamiento con corticoides + baricitinib (n=22)		p
	Basal	Tras 48 horas de la administración	
SpO ₂ /FiO ₂	450 (438-462)	452 (375-463)	0,508
Leucocitos (céls/mm ³)	5380 (4558-6780)	7055 (6398-10230)	0,006
Polimorfonucleares neutrófilos (céls/mm ³)	3845 (2862-5167)	4820 (3355-5803)	0,322
Linfocitos (céls/mm ³)	815 (608-1187)	1700 (1290-3035)	<0,001
Ratio Neutrófilos-Linfocitos	5,1 (2,8-6,4)	2,6 (1,5-3,7)	<0,001
PMNs formadores de NETs (porcentaje of PMNs)	70 (66-88)	40 (26-60)	0,002
Lactato deshidrogenasa (LDH)	305 (261-339)	199 (30-260)	0,001
Proteína C-reactiva (mg/l)	87 (49-121)	18 (8-36)	<0,001
Ferritina (ng/ml)	518 (383-981)	658 (418-983)	0,339
Plaquetas (céls x 10 ³ /mm ³)	186 (158-233)	287 (206-370)	<0,001

Fibrinógeno (mg/l)	666 (545-761)	459 (381-526)	<0,001
Dímeros-D (mg/l)	513 (435-790)	564 (342-890)	0,077

El patrón es similar al anteriormente mencionado: aunque mejoran diversos parámetros asociados a inflamación (proporción de PMN que forman NETs, concentraciones séricas de LDH y PCR) y de la coagulación (fibrinógeno), no se modifica significativamente la relación SpO₂/FiO₂.

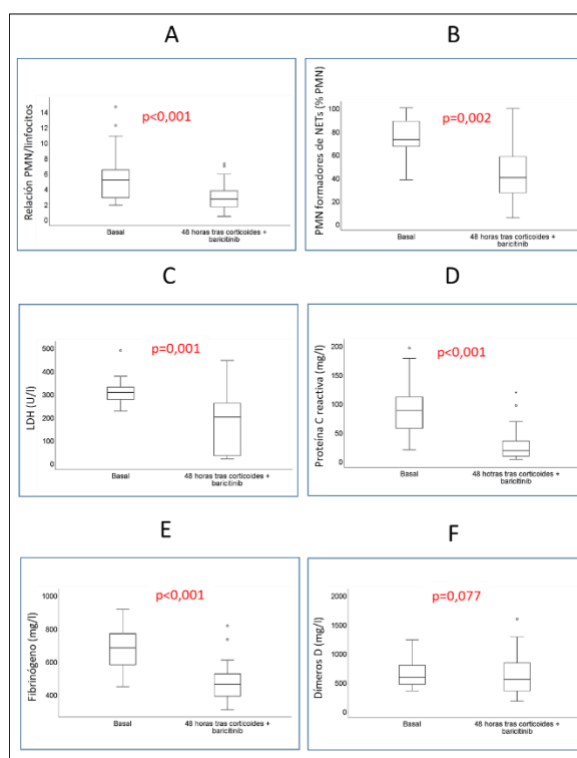


Figura 23. Evolución tras 48 horas de la instauración de tratamiento con corticosteroides y baricitinib de la relación polimorfonucleares/linfocitos (A), proporción de polimorfonucleares que forman NETs (B), concentraciones séricas de láctico-deshidrogenasa (LDH) (C) y proteína C reactiva (PCR) (D) y plasmáticas de fibrinógeno (E) y dímero D (F).

La evolución de los parámetros, considerados al ingreso, alta y 14 días tras ésta, de los enfermos que recibieron corticoides combinados con baricitinib como tratamiento inmunomodulador y sobrevivieron se presenta en la tabla 14.

Tabla 14. Evolución de los parámetros gasométricos y analíticos de los enfermos con neumonía por SARS-CoV2 que recibieron tratamiento inmunomodulador con corticoides más baricitinib y sobrevivieron (n=22).

Parámetro	Basal (Tb)	Al alta hospitalaria (Ta)	14 días tras el alta hospitalaria (T14a)	p Tb vs Ta	p Tb vs 14Ta	p Ta vs T14a
SpO2/FiO2	450 (438-462)	467 (461-467)	467 (462-467)	<0,001	<0,001	0,917
Factores relacionados con la activación de neutrófilos						
Leucocitos/mm3	5380 (4558-6780)	8905 (7382-11925)	6290 (5080-9265)	0,001	0,149	0,002
Linfocitos/mm3	815 (608-1187)	2660 (1357-3087)	1700 (1085-2270)	<0,001	<0,001	0,106
Neutrófilos/mm3	3845 (2862-5167)	5870 (4302-7805)	3730 (3325-6035)	0,036	0,931	0,003
Ratio Neutrófilos- Linfocitos	5,1 (2,8-6,4)	2,7 (1,4-3,6)	2,4 (1,7-3,7)	0,001	<0,001	0,639
PMN formadores de NETs (% PMN)	70 (66-88)	29 (14-48)	17 (14-40)	<0,001	<0,001	0,055
PMN formadores de NETs (células/mm3)	3047 (2004-3990)	1642 (607-2705)	906 (517-1586)	0,001	<0,001	0,035
Mieloperoxidasa (ng/ml)	886 (500-1500)	788 (500-1495)	367 (283-500)	0,354	0,014	0,003
DNAse I (ng/ml)	9 (2-13)	28 (15-46)	13 (10-27)	< 0,001	0,015	0,015
Otros factores relacionados con la inflamación						
LDH (UI/l)	305 (261-339)	219 (192-254)	171 (156-197)	0,001	<0,001	0,002
Proteína C reactiva (mg/l)	87 (49-121)	5 (3-10)	2 (0-6)	<0,001	<0,001	0,106
Ferritina (ng/ml)	518 (383-981)	682 (394-1144)	273 (131-390)	0,592	<0,001	<0,001
Factores relacionados con la activación plaquetaria, endotelial y de la coagulación						
Plaquetas x 10 ³ /mm3	186 (158-233)	363 (279-410)	208 (156-244)	<0,001	0,945	<0,001
Factor plaquetario 4 (ng/ml)	7992 (6237-9849)	13301 (11038-14688)	8179 (4736-9610)	<0,001	0,809	<0,001
P-selectina (ng/ml)	49 (40-54)	59 (59-113)	50 (34-66)	0,008	0,678	0,011
E-selectina (ng/ml)	32 (18-51)	29 (13-46)	27 (18-50)	0,314	0,374	0,594
Molécula de adhesión celular vascular 1 (ng/ml)	2440 (2440-4795)	1943 (1273-2622)	1192 (952-2116)	0,028	0,008	0,139

Factor de crecimiento vascular endotelial (pg/ml)	145 (77-160)	120 (99-343)	76 (67-149)	0,110	0,139	0,008
Fibrinógeno (mg/l)	666 (545-761)	427 (315-457)	324 (282-416)	<0,001	<0,001	0,314
Dímeros-D (mg/l)	513 (435-790)	477 (330-684)	298 (245-1154)	0,022	0,163	0,959

Los pacientes que recibieron tratamiento combinado con corticoides más baricitinib presentaron una edad media de 56 años (45-70) y una media de 2 puntos en la escala de gravedad de NEWS 2 (1-3). En este grupo de enfermos fue más significativa aún la mejoría en la relación SpO₂/FiO₂ al alta, con respecto al ingreso, momento en el que los valores estaban disminuidos.

7.3.4. Evolución de los parámetros gasométricos y analíticos de los enfermos que sobrevivieron y fueron tratados con corticoides más tocilizumab.

Se evaluó la influencia del tratamiento corticoideo más tocilizumab (29 enfermos, de los cuales 19 estaban recibiendo asimismo baricitinib) sobre varios de los factores analizados en este estudio a partir de medidas tomadas previo al mismo y 48-72 horas tras su administración. Los resultados se resumen en la tabla 15 y figura 24.

Tabla 15. Evolución de los parámetros gasométricos y analíticos, de modo agudo –basal y tras 48 horas de la administración, de los enfermos que recibieron corticoides + tocilizumab, como tratamiento inmunomodulador, y sobrevivieron (n=23)

Variable	Pacientes con neumonía por SARS-CoV-2 que recibieron tratamiento con corticoides + tocilizumab (n=23)		p
	Basal	Tras 48 horas de la administración	
SpO2/FiO2	414 (288-429)	242 (123-315)	<0,001
Leucocitos (cél/mm3)	5960 (4570-7900)	6950 (5580-9730)	0,183
Polimorfonucleares neutrófilos (cél/mm3)	5030 (3360-6740)	5080 (3975-8100)	0,412
Linfocitos (cél/mm3)	730 (570-960)	990 (670-1615)	0,004
Ratio Neutrófilos-Linfocitos	6,0 (3,5-8,8)	4,4 (2,6-10,8)	0,527
PMNs formadores de NETs (porcentaje of PMNs)	76 (66-99)	59 (42-80)	0,045
Lactato deshidrogenasa (LDH)	372 (282-411)	383 (247-467)	0,989
Proteína C-reactiva (mg/l)	151 (109-215)	22 (9-36)	<0,001
Ferritina (ng/ml)	946 (567-1656)	818 (393-1537)	0,568
Plaquetas (cél x 10 ³ /mm3)	205 (188-232)	287 (240-324)	<0,001
Fibrinógeno (mg/l)	697 (516-771)	424 (381-504)	<0,001
Dímeros-D (mg/l)	645 (422-1272)	894 (521-1497)	0,551

En este caso, las mejoras en parámetros inflamatorios (exclusivamente PCR y PMN formadores de NETs) o de coagulación (fibrinógeno) son menores que en casos anteriores. Tras 48 horas del tratamiento con tocilizumab, la SpO2/FiO2 no sólo no ha mejorado, sino que ha continuado empeorando.

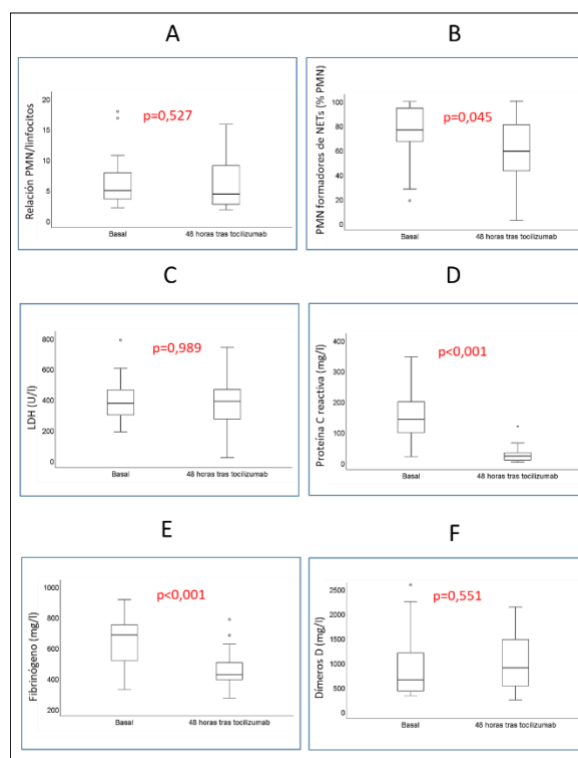


Figura 24. Evolución tras 48 horas de la instauración de tratamiento con corticosteroides y tocilizumab (con o sin baricitinib) de la relación polimorfonucleares/linfocitos (A), proporción de polimorfonucleares que forman NETs (B), concentraciones séricas de láctico-deshidrogenasa (LDH) (C) y proteína C reactiva (PCR) (D) y plasmáticas de fibrinógeno (E) y dímero D (F).

La evolución de los parámetros, considerados al ingreso, alta y 14 días tras ésta, de los enfermos que recibieron corticoides combinados con tocilizumab (con o sin baricitinib) como tratamiento inmunomodulador y sobrevivieron se presenta en la tabla 16.

Tabla 16. Evolución de los parámetros gasométricos y analíticos de los enfermos con neumonía por SARS-CoV2 que recibieron tratamiento inmunomodulador con corticoides más tocilizumab (con o sin baricitinib) y sobrevivieron (n=23).

Parámetro	Basal (Tb)	Al alta hospitalaria (Ta)	14 días tras el alta hospitalaria (T14a)	p Tb vs Ta	p Tb vs 14Ta	p Ta vs T14a
SpO2/FiO2	414 (288-429)	457 (452-467)	462 (452-463)	<0,001	<0,001	0,529
Factores relacionados con la activación de neutrófilos						
Leucocitos/mm3	5960 (4570-7900)	7095 (5860-9567)	6270 (4730-7585)	0,108	0,689	0,003

Linfocitos/mm3	730 (570-960)	2310 (1162-3122)	1890 (1430-2925)	<0,001	<0,001	0,153
Neutrófilos/mm3	5030 (3360-6740)	4235 (3152-5878)	3110 (2390-4640)	0,236	0,011	0,006
Ratio Neutrófilos- Linfocitos	6,0 (3,5-8,8)	2,1 (1,1-4,4)	1,4 (1,1-2,8)	<0,001	<0,001	0,314
PMN formadores de NETs (% PMN)	76 (66-99)	21 (9-41)	16 (7-28)	<0,001	<0,001	0,289
PMN formadores de NETs (células/mm3)	4000 (1975-5517)	1026 (237-1987)	556 (197-1129)	0,001	<0,001	0,147
Mieloperoxidasa (ng/ml)	500 (463-1481)	979 (455-1500)	441 (181-840)	0,556	0,039	0,014
DNasa I (ng/ml)	5 (2-13)	23 (13-36)	12 (7-23)	0,002	0,028	0,015
Otros factores relacionados con la inflamación						
LDH (UI/l)	372 (282-411)	249 (206-294)	214 (178-259)	0,001	<0,001	0,024
Proteína C reactiva (mg/l)	151 (109-215)	2 (1-6)	0 (0-1)	<0,001	<0,001	0,094
Ferritina (ng/ml)	946 (567-1656)	788 (337-1263)	200 (81-320)	0,100	<0,001	<0,001
Factores relacionados con la activación plaquetaria, endotelial y de la coagulación						
Plaquetas x 10 ³ /mm3	205 (188-232)	291 (223-392)	167 (134-197)	0,006	0,021	0,001
Factor plaquetario 4 (ng/ml)	8354 (5902-10156)	8234 (5218-13642)	5473 (2631-7996)	0,575	0,001	0,010
P-selectina (ng/ml)	42 (30-59)	64 (59-96)	49 (43-60)	0,004	0,121	0,003
E-selectina (ng/ml)	31 (19-45)	32 (23-37)	38 (21-46)	0,609	0,148	0,650
Molécula de adhesión celular vascular 1 (ng/ml)	2440 (2440-3251)	2136 (1196-2441)	1675 (1236-2182)	0,008	0,004	0,433
Factor de crecimiento vascular endotelial (pg/ml)	160 (101-227)	162 (85-328)	97 (65-122)	0,163	0,003	0,004
Fibrinógeno (mg/l)	697 (516-771)	245 (216-345)	222 (182-258)	<0,001	<0,001	0,324
Dímeros-D (mg/l)	645 (422-1272)	595 (228-1042)	324 (243-849)	0,984	0,005	0,002

Los pacientes que recibieron tratamiento con tocilizumab durante el ingreso hospitalario eran pacientes de más edad, 65 años (46-71) con una puntuación en la escala de gravedad NEWS2 de 6 puntos (5-7). Los resultados muestran que, a pesar de que no se hubiera observado a las 48 horas de administración de tocilizumab, una mejoría de la oxigenación y de que la mejoría de los parámetros inflamatorios o de coagulación hubiera sido escasa (aunque significativa cuando se trataba de neutrófilos formadores de NETs o PCR y fibrinógeno), tras el seguimiento de los enfermos se apreciaba una clara mejoría de la mayoría de los parámetros estudiados, de tal modo que ocurrió un incremento significativo al alta de la SpO₂/FiO₂ y una disminución significativa de neutrófilos formadores de NETs, relación neutrófilos/linfocitos, concentración de fibrinógeno y niveles séricos de VCAM1 y VEGF. La disminución de las concentraciones de ferritina y dímeros D se observó 14 días tras el alta.

7.4. Evolución de los enfermos durante la hospitalización.

Como se comentó en un apartado previo, 15 enfermos (17%) recibieron tratamiento sintomático, 20 pacientes (23%) exclusivamente corticoides, 23 corticoides más baricitinib (26%), 11 corticoides más tocilizumab (13%) y 18 corticoides, baricitinib y tocilizumab (21%). Sin embargo, siete pacientes necesitaron ingreso en UCI (8%) por insuficiencia respiratoria progresiva y, finalmente, fallecieron. Las características diferenciales de los pacientes en el momento del ingreso hospitalario en función de la supervivencia se muestran en la Tabla 17.

Tabla 17. Características basales de los pacientes con neumonía por SARS CoV-2 en función de la supervivencia.

Variable	Pacientes con neumonía por SARS-CoV-2 (n=87)		p
	Supervivientes (n=80)	Ingreso en UCI/muerte (n=7)	
Edad (años)	55 (44-68)	62 (49-68)	0,353
Sexo varón (n,%)	50 (63)	4 (57)	1,000
Comorbilidad			
Hipertensión arterial (n,%)	29 (36)	4 (57)	0,419
Diabetes mellitus (n,%)	14 (18)	4 (57)	0,031
Obesidad (Índice de masa corporal > 30 kg/m2) (n,%)	19 (24)	3 (43)	0,362
Enfermedad cardiovascular (n, %)	12 (15)	4 (57)	0,020
Tratamiento anticoagulante previo (n, %)	2 (3)	1 (14)	0,225
Tratamiento antiagregante previo (n, %)	13 (16)	3 (43)	0,113
Variables clínicas y gasométricas iniciales			
Tiempo desde el inicio de los síntomas hasta la admisión (días)	9 (7-11)	8 (7-11)	0,437
Afectación radiológica de más de un lóbulo pulmonar (n,%)	58 (72)	7 (100)	0,184
SpO2/FiO2	448 (417-466)	310 (282-410)	0,002
NEWS2 score			
NEWS2 (points)	2 (1-5)	7 (6-7)	<0,001
NEWS2 > 6 (n,%)	6 (8)	4 (57)	0,003
Call Score			
Call Score (points)	9 (6-10)	11 (8-13)	0,082
Call Score > 9 (n, %)	31 (39)	4 (57)	0,456
CHA2DS2-VASc ≥ 1 (n, %)	30 (38)	4 (57)	0,425
Variables analíticas: polimorfonucleares y parámetros relacionados			
Leucocitos (cél/mm3)	5515 (4273-7183)	6960 (5150-8180)	0,292
Polimorfonucleares neutrófilos (cél/mm3)	3845 (2810-5585)	5350 (4360-6340)	0,180
Linfocitos (cél/mm3)	855 (638-1208)	820 (750-1100)	0,919
Ratio Neutrófilos-Linfocitos	4,2 (2,8-6,5)	5,0 (4,4-7,7)	0,261
PMNs formadores de NETs (porcentaje of PMNs)	75 (65-89)	69 (34-89)	0,731
PMNs formadores de NETs (cél/mm3)	2725 (1974-4013)	4018 (2105-4791)	0,165
Mieloperoxidasa (ng/ml)	869 (500-1500)	ND	
DNAsa I (ng/ml)	6 (3-12)	ND	
Otros parámetros inflamatorios			
Lactato deshidrogenasa (LDH)	295 (221-362)	487 (400-545)	<0,001
Proteína C-reactiva (mg/l)	79 (30-136)	88 (42-165)	0,657
Ferritina (ng/ml)	481 (313-997)	591 (282-5062)	0,492
Plaquetas y moléculas derivadas de la activación plaquetaria y de la coagulación			
Plaquetas (cél x 10 ³ /mm3)	195 (161-232)	205 (180-224)	0,988
Factor Plaquetario 4 (ng/ml)	7993 (6198-9697)	8319 (7330-10193)	0,450

P-selectina (ng/ml)	45 (31-59)	47 (34-48)	0,826
Fibrinógeno (mg/l)	633 (465-732)	573 (475-839)	0,987
Dímeros-D (mg/l)	533 (415-973)	734 (465-1066)	0,533
Moléculas derivadas del endotelio			
E-selectina (ng/ml)	32 (19-47)	45 (30-61)	0,086
Molécula de adhesión celular vascular 1 (ng/ml)	2441 (2002-2882)	5112 (4598-6101)	<0.001
Factor de crecimiento vascular endotelial (pg/ml)	146 (88-195)	213 (114-281)	0,134

Los pacientes que no sobrevivieron eran diabéticos y presentaban enfermedad cardiovascular previa con más frecuencia, tenían una puntuación significativamente más alta en el score NEWS2 y una SpO2/FiO2 más baja. Entre los parámetros analíticos estudiados, la concentración sérica de LDH y de VCAM-1 eran significativamente mayores en los que ingresaron en UCI o fallecieron.

El análisis multivariante por regresión de Cox demostró que el mejor modelo de factores, presentes en el momento del ingreso hospitalario, independientemente asociados con la supervivencia fue el que incluía la puntuación en el score NEWS2 y las concentraciones séricas de LDH y VCAM-1 (Tabla 18).

Tabla 18. Factores implicados de modo independiente en la supervivencia de enfermos con neumonía por SARS-CoV2, presentes en el momento del ingreso hospitalario (n=87).

Parámetro	Exp (B)	Intervalo de confianza (95%)		p
		Inferior	Superior	
Score NEWS2 (puntuación)	1,923	0,922	4,008	0,081
Concentración sérica de LDH (U/l)	1,007	1,002	1,012	0,010
Concentración sérica de VCAM-1 (ng/ml)	1,001	1,000	1,002	0,012

Las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier en función del score NEWS2 ≤ 6 o >6 o de las concentraciones séricas de LDH y VCAM-1, categorizadas en función de la mediana de sus valores en el global de enfermos, se muestran en la figura 25.

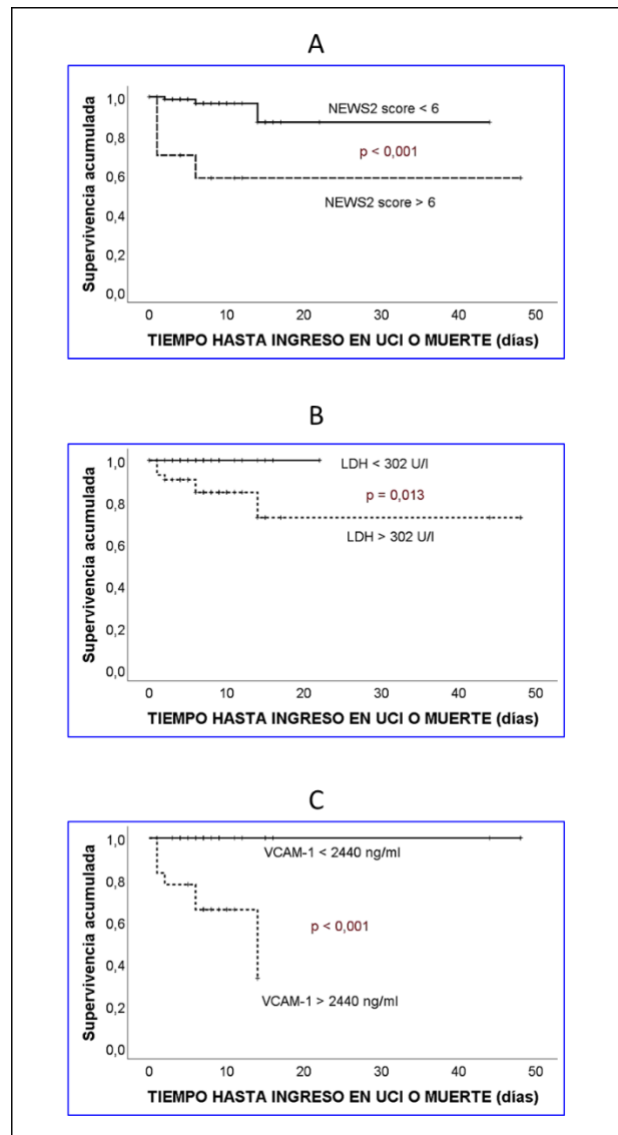


Figura 25. Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier en pacientes con neumonía por SARS CoV-2 en función de: A) Score NEWS2 ≤ 6 (línea continua) o > 6 (línea discontinua). B) Concentración sérica de láctico-deshidrogenasa (LDH) ≤ 302 (línea continua) o > 302 (línea discontinua). C) Concentración sérica de la molécula de adhesión vascular tipo 1 (VCAM-1) ≤ 2440 (línea continua) o > 2440 (línea discontinua).

La instauración de terapéutica en estos enfermos, distribuidos en función de su supervivencia, se presenta en la Tabla 18.

Table 18. Características terapéuticas de los pacientes con neumonía por SARS CoV-2, distribuidos en función de la supervivencia.

Variable	Pacientes con neumonía por SARS-CoV-2 (n=87)		p
	Supervivientes (n=80)	Ingreso en UCI/muerte (n=7)	
Tratamiento exclusivamente sintomático (n,%)	15 (19)	0 (0)	0,021
Tratamiento con corticoides como único inmunomodulador (n,%)	20 (25)	0 (0)	
Tratamiento con corticoides más baricitinib (n,%)	22 (28)	1 (14)	
Tratamiento con corticoides (con o sin baricitinib) más tocilizumab (n,%)	23 (29)	6 (86)	

Aparte de los factores presentes en el momento del ingreso hospitalario y con el objeto de conocer la influencia del tratamiento realizado, introdujimos en un nuevo modelo multivariante explicativo de pronóstico, la necesidad o no de tratamiento con inmunomoduladores (junto con el propensity score propio del mismo) (Tabla 19).

Tabla 19. Factores implicados de modo independiente en la supervivencia de enfermos con neumonía por SARS-CoV2, tanto presentes en el momento del ingreso hospitalario como atendiendo al tratamiento efectuado (n=87).

Parámetro	Exp (B)	Intervalo de confianza (95%)		p
		Inferior	Superior	
Score NEWS2 (puntuación)	2,474	0,917	6,673	0,074
Concentración sérica de LDH (U/l)	1,008	1,002	1,014	0,011
Concentración sérica de VCAM-1 (ng/ml)	1,002	1,000	1,003	0,025

En el modelo, las únicas variantes explicativas de pronóstico continúan siendo las presentes en el momento del ingreso hospitalario establecidas previamente.

8.-DISCUSSION

El presente estudio ha analizado el papel de los polimorfonucleares neutrófilos en pacientes con neumonía por SARS-CoV-2, centrándonos en su capacidad para producir NETs.

En una serie de 87 enfermos con neumonía por SARS-CoV2 hemos comprobado que existe un incremento del número de neutrófilos que forman NETs, incremento que se reduce progresivamente hasta el momento del alta hospitalaria e incluso de la convalecencia; a pesar de lo cual, incluso tras 14 días tras el alta, la cifra de NETs continúa siendo superior a la de los controles sanos.

Son importantes dos hallazgos referidos a las NETs. Por un lado, existió una correlación significativa con parámetros clínicos, en concreto, con el índice NEWS2 de los enfermos, esto es, con la situación respiratoria y hemodinámica de los mismos. Y por otro, existió una correlación asimismo significativa, con un parámetro analítico indicativo de activación endotelial, la concentración sérica de VCAM-1.

En el momento de la realización de este estudio no se disponía de fármacos antivirales en la terapia de la COVID-19. Se empleó un protocolo de tratamiento, al que se adhirieron los médicos encargados del cuidado de estos enfermos. En este protocolo figuraban corticosteroides, baricitinib y tocilizumab. Los datos objetivos detectados a las 48 horas de administrar corticoides, corticoides más baricitinib o corticoides más tocilizumab (con o sin baricitinib) no mostraron una mejoría significativa en los parámetros de oxigenación, aunque sí en los indicativos de activación inflamatoria o de situación procoagulante.

La mortalidad de la serie fue escasa. Los parámetros independientemente implicados en la misma, fueron la situación respiratoria y hemodinámica (índice NEWS2) y las concentraciones séricas de LDH y VCAM-1.

8.1.- CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MUESTRA

La muestra estuvo constituida por 87 enfermos, diagnosticados de neumonía por SARS-CoV2, cuya mediana de edad era 56 años, predominantemente varones, y con distintas comorbilidades (fundamentalmente factores de riesgo vascular) en más de un tercio de ellos.

Habían precisado ingreso hospitalario en la segunda semana de la enfermedad, habitualmente, como corresponde a la fase inflamatoria de la misma ^{20 42 99} . Sólo un 12% presentaban un índice NEWS2 mayor de 6. Un 77% presentaban un índice CALL mayor de 6.

En este trabajo se han empleado dos escalas para evaluar la gravedad inicial de los enfermos: el índice NEWS2 y el índice CALL. La escala NEWS2 valora parámetros respiratorios (frecuencia respiratoria, saturación de oxígeno, necesidad de oxígeno suplementario, insuficiencia respiratoria hipercápnica), hemodinámicos (frecuencia cardíaca, tensión arterial), estado de conciencia y temperatura. Se considera que una puntuación mayor de 6 es un punto de corte adecuado para predecir el deterioro clínico. Atendiendo a la capacidad para predecir la progresión, presenta un valor predictivo negativo del 92% y positivo del 37% ²⁴⁵ . La escala CALL utiliza un nomograma que relaciona la leucopenia, la edad mayor de 60 años, la presencia de comorbilidades y las

concentraciones de dímero D y láctico deshidrogenasa (LDH) para predecir el pronóstico. Un índice mayor de 6 tiene un valor predictivo negativo del 98% y positivo del 50% ¹³² .

Todos los parámetros indicativos de estado inflamatorio o procoagulante, obtenidos de modo habitual en la práctica clínica (relación neutrófilos/linfocitos, concentraciones de PCR, ferritina, LDH, fibrinógeno, dímeros D) estaban significativamente incrementados con respecto a una muestra apareada de controles sanos.

En la mayoría de casos, se trataba de un patrón radiológico intersticio-alveolar bilateral, como corresponde a lo descrito en la literatura ^{20 113} . Es necesario considerar, en cualquier caso, que las imágenes radiológicas correspondían a estudios realizados con aparatos portátiles, por las propias condiciones de aislamiento imperantes en el momento de realizarse el estudio. Con ello queremos indicar que es posible que parte o todo el 25% de los enfermos que sólo presentaban afectación radiológica de un lóbulo pulmonar correspondieran a una proporción supraestimada.

8.2.- BIOMARCADORES DE INVESTIGACIÓN

El estudio ha analizado marcadores usados en la rutina asistencial e indicativos de estado inflamatorio (relación neutrófilos/linfocitos, concentración sérica de PCR, ferritina y LDH) y procoagulante (concentraciones de fibrinógeno y dímeros D) ^{103 106 248} . Y al mismo tiempo, otros biomarcadores que permiten una mayor profundización en la patogenia y fisiopatología de la enfermedad (formación de NETs, parámetros indicativos de activación plaquetaria –FP4 y P-selectina- o endotelial –VCAM-1 y VEGF-).

8.2.1.- NETs

Las NETs son estructuras extracelulares liberadas por los neutrófilos y formadas por cromatina, histona) y proteasas, con capacidad de capturar y destruir patógenos, además de modular la respuesta inflamatoria ^{195 196} . A pesar de su efecto beneficioso, las NETs pueden tener efectos nocivos: su activación inadecuada puede contribuir al daño tisular y la inflamación excesiva, como ha sido observado en enfermedades autoinmunes sistémicas ¹⁹⁸ .

La mayoría de los estudios sobre la patogénesis de la COVID-19 se han centrado en el papel de los macrófagos ^{249 250} , prestando poca atención a los neutrófilos. Sin embargo, hay una intensa infiltración por estas células en los alvéolos y el espacio intersticial pulmonar de los pacientes con neumonía por SARS-CoV-2 ²¹⁹ , y las células predominantes en el lavado broncoalveolar también son neutrófilos ²⁵¹ , al igual que en los trombos microvasculares en los capilares pulmonares, junto a las plaquetas ²⁵¹ . Su capacidad para el control de la proliferación de SARS-CoV2 in vitro ha sido demostrada ²⁵² .

En comparación con sujetos sanos, los pacientes con COVID-19 tienen niveles elevados de marcadores séricos indicativos de la existencia de NETs, como ADN libre, complejos ADN-MPO e histona H3 citrulinada ^{253 254 255} . Los valores de estos índices indirectos de NETs son significativamente más altos en pacientes con peores medidas gasométricas ^{253 254 256,257} .

En este estudio, hemos utilizado un procedimiento para detectar directamente la formación de NETs por parte de los polimorfonucleares, demostrando niveles elevados en pacientes con neumonía por SARS-CoV-2, con valores ocho veces superiores a los observados en controles sanos.

El nivel de otro mediador de los PMNs, la mieloperoxidasa, no siguió el mismo patrón; de hecho, su concentración sérica fue similar a la de los controles sanos. Shrivastava et al. demostraron niveles elevados de mieloperoxidasa sólo en un subgrupo de estos pacientes ²⁵⁸. Nuestros hallazgos sugieren que la formación de NETs y la secreción de mieloperoxidasa podrían seguir caminos diferentes en la COVID-19. Es posible especular que la MPO secretada por los polimorfonucleares (y posiblemente otras enzimas) quedaría atrapada en estas redes neutrofílicas, sin un aumento detectable en la sangre periférica.

Los estímulos asociados con la producción de NETs incluyen el propio SARS-CoV-2 ²⁵⁹, antígenos asociados con lesiones celulares^{260 261}, células endoteliales activadas ²⁶² y citocinas proinflamatorias ^{195 263,264}. En este sentido, la correlación significativa detectada en este trabajo entre el recuento de NETs y los parámetros indicativos de inflamación estudiados (PCR, ferritina) fue notable. Aún más interesante resultó el hecho de que el recuento de neutrófilos que forman NETs se correlacionó directamente con la escala pronóstica NEWS2 e inversamente con el estado de oxigenación (determinado por la relación SatO2/FiO2).

En el momento de la hospitalización, la concentración del principal enzima implicado en la degradación de NETs, la DNAasa I ²⁶⁵, era similar a la de los controles sanos.

8.2.2.- ACTIVACIÓN ENDOTELIAL

La adhesión de los leucocitos circulantes al endotelio vascular es el paso fundamental para su extravasación durante la inflamación. Este proceso está mediado por la molécula de adhesión E-selectina. La E-selectina facilita la fase temprana de

adhesión de los polimorfonucleares a la célula endotelial, constituyendo un marcador sérico temprano de la respuesta inflamatoria y promoviendo el daño celular por isquemia ^{266,267}. La unión firme y la migración transendotelial dependen de la interacción entre las moléculas endoteliales de adhesión intercelular-1 (ICAM-1) y de adhesión celular vascular-1 (VCAM-1) y las integrinas leucocitarias antígeno de función linfocitaria-1 (LFA-1, CD11a/ CD18) y antígeno de activación tardía-4 (VLA-4, CD49/ CD29) ^{268,269}.

VEGF es otro factor endotelial implicado en la angiogénesis e incremento de la permeabilidad vascular ²⁷⁰. Las moléculas de adhesión endoteliales y VEGF pueden desprenderse de la superficie celular a la circulación y sus valores solubles pueden reflejar su expresión sobre la superficie endotelial ²⁷¹. Varga et al. han revelado la acumulación de células inflamatorias asociadas al endotelio activado en la COVID-19 ²³⁵. Las células endoteliales activadas liberan moléculas de adhesión leucocitaria, citocinas proinflamatorias y quimiocinas en individuos con COVID-19 ²⁷².

Los hallazgos detectados en el momento del ingreso en la serie que presentamos pusieron de manifiesto el incremento significativo de la concentración de VCAM-1 y VEGF en los enfermos con neumonía por SARS-CoV2 respecto a controles sanos. A diferencia de los anteriores, los niveles de E-selectina fueron similares en ambos grupos. Esta aparente contradicción puede estar justificada por los diferentes tiempos de expresión de unas y otras moléculas: mientras que E-selectina se expresa fundamentalmente en las fases iniciales de activación endotelial, VCAM-1 y VEGF lo hacen en fases tardías ²⁷³.

Ha de considerarse que los enfermos estudiados presentaban un tiempo de evolución desde el inicio de los síntomas de 9 días. En este sentido, la situación de la isquemia coronaria supone un ejemplo con un paralelismo evidente con la COVID-19:

mientras que en la angina inestable la concentración sérica de E-selectina (y también de VCAM-1) está aumentada, en el infarto agudo de miocardio su concentración es similar a la de controles sanos ²⁷⁴. En enfermos con COVID-19, Oliva et al y Sütó et al no encontraron diferencias significativas entre las concentraciones séricas de E-selectina de pacientes hospitalizados con COVID-19 y controles sanos ^{275,276}.

Por el contrario, se ha detectado un incremento de las concentraciones séricas de VCAM-1 y VEGF en enfermos con COVID-19 ^{272 275 276}, como se detectó asimismo en el presente trabajo. Estos datos apoyan la existencia de una activación endotelial en enfermos con neumonía por SARS-CoV2, activación que pudiera ser consecuencia de la acción del propio virus o de los efectos derivados de la actuación de células inflamatorias y liberación de citocinas ²⁷⁷. La correlación demostrada entre las concentraciones de VCAM-1 y el recuento de neutrófilos formadores de NETs sugiere en este sentido una influencia recíproca de los polimorfonucleares hacia el desencadenamiento de alteraciones en la microcirculación y de la activación endotelial hacia la continua generación de NETs.

Y completando este apartado, las concentraciones séricas de VCAM-1 y de VEGF se han asociado a la gravedad de esta enfermedad ^{232 231}. Es destacable, en este sentido el hecho de que en nuestro trabajo se detectó una correlación significativa entre la concentración de VCAM-1 y el índice NEWS2, indicativo del riesgo de progresión a formas graves de la enfermedad.

8.2.3.- ACTIVACIÓN PLAQUETARIA

En la COVID-19 existe un mayor riesgo de coagulopatía y tromboembolismo que contribuyen a la mortalidad ²⁷⁸. La hipercoagulabilidad observada en COVID-19 puede explicarse por tres patologías que interactúan estrechamente e incluso se retroalimentan entre sí:

- a) Activación endotelial, previamente comentada.
- b) Coagulopatía. Incluye tanto la activación de la vía extrínseca de la cascada de coagulación por el factor tisular expresado por monocitos en respuesta a IL-6 e IL-1 β , como la supresión de la fibrinólisis a través de la disminución de la actividad del activador del plasminógeno ²⁷⁹.
- c) Activación de las plaquetas. Las plaquetas se activan directamente mediante la proteína de espiga (proteína S) del SARS-CoV-2 e indirectamente a través de mediadores liberados del endotelio dañado ²⁸⁰.

Efectivamente, de modo paralelo a la activación endotelial, las plaquetas también se activan en este entorno inflamatorio y participan en la formación de agregados con leucocitos y en las interacciones plaquetas-células endoteliales ²⁸¹

En el 70-95% de los pacientes con infección por COVID-19 grave se detecta trombocitopenia leve (un recuento de plaquetas menor de 150.000 plaquetas/l) ¹⁰⁶. La cifra de plaquetas/mm³ en nuestro estudio fue asimismo inferior que la de controles sanos. Es posible que esta trombopenia leve esté en relación con su consumo en fenómenos microtrombóticos múltiples presentes en la fase inflamatoria de la enfermedad. Los datos de la literatura no apoyan un papel de la trombocitopenia en el pronóstico ¹⁰⁶

La selectina P (CD62P) se almacena en los gránulos α de las plaquetas y en los cuerpos de Weibel-Palade de las células endoteliales y se expresa en sus superficies tras la activación²⁸². Cuando el dominio extracelular se une a su ligando, se libera a la circulación y se denomina P-selectina soluble (P-selectina), que corresponde a lo medido en este trabajo. El incremento de concentraciones séricas de P-selectina tiene una relación notable con la incidencia de eventos tromboembólicos y la probabilidad de un resultado desfavorable en la enfermedad COVID-19²⁸³. Nuestros resultados demuestran que la concentración de P-selectina soluble es similar a la de controles sanos. Estos resultados contradicen los detectados por otros autores que observan elevaciones de este marcador, sobre todo en aquellos sujetos con mala evolución²⁷⁶. Profundizando en este aspecto, Watany et al demuestran que los enfermos que presentan una elevación sérica de P-selectina son aquellos que presentan trombosis (y en consecuencia, de acuerdo a Sütő, tienen un mal pronóstico), mientras que aquellos que no lo hacen expresan concentraciones de P-selectina soluble en sangre periférica similares a las de los controles sanos²⁸³.

PF4, también conocida como ligando 4 de quimiocina (CXCL4), es una quimiocina, liberada por los gránulos alfa de plaquetas activadas durante la agregación plaquetaria, que promueve la coagulación sanguínea y desempeña un papel en la quimiotaxis de neutrófilos y monocitos²⁸⁴. En formas graves de COVID-19 se han detectado concentraciones incrementadas de PF4²⁸⁵. Asimismo, concentraciones elevadas y mantenidas de esta quimiocina se han asociado con síntomas de COVID prolongado²⁸⁶. Por otro lado, se han detectado anticuerpos anti-PF4 en pacientes con trombosis y trombocitopenia tras heparina o tras la vacunación con la vacuna Oxford-AstraZeneca o Janssen frente a SARS-CoV2.²⁸⁷

En nuestro trabajo, del mismo modo que P-selectina, no hemos detectado incrementos de la concentración sérica de PF4. Se ha considerado que el depósito por las plaquetas activadas de PF4 en los lugares donde están ocurriendo fenómenos inflamatorios promueve la adhesión de neutrófilos a las células endoteliales y la liberación de NETs, que a su vez promueven la coagulación ²⁸⁸. Del mismo modo que se comentó con el número de plaquetas, es posible que la liberación de PF4 sea focal, sin evidencia de incremento sistémico de PF4. De hecho, en nuestra serie a medida que disminuyen los fenómenos inflamatorios y ocurre la mejoría de los enfermos, se observa un incremento tanto del número de plaquetas como de la concentración sérica de PF4, incluso en enfermos sin tratamiento inmunomodulador.

A diferencia de la interrelación activación plaquetaria-formación de NETs postulada como hipótesis por otros autores ²⁸⁹, no existió en el presente estudio una correlación significativa entre el recuento de NETs y la activación plaquetaria (PF4, P-selectina) o parámetros de coagulación (D-dímeros), lo que aboga en contra de una posible influencia directa de los NETs en la activación de la cascada de coagulación. En la misma línea, otros estudios no han mostrado una relación entre el desarrollo de tromboembolismo pulmonar y la cuantificación de marcadores indicativos de NETs en sangre periférica ²⁵⁶. Tampoco se demostró una correlación entre la escala de predicción de trombosis de Wells o la escala CHA₂DS₂-VASc y los parámetros de activación endotelial y plaquetarios. Las publicaciones al respecto no muestran tampoco eficacia de la escala Wells para predecir los eventos tromboembólicos en la población COVID-19. En un estudio retrospectivo con una cohorte de 459 pacientes con COVID-19, la escala Wells solo predijo un 33% de los embolismos pulmonares entre los pacientes con puntuaciones en la escala de 4 puntos o más, con un área bajo la curva de 0,54. ²⁹⁰ Y en

cuanto a la escala CHA₂DS₂-VASc, sirvió en otras series más para predecir mortalidad que eventos tromboembólicos.²⁹¹

8.3. TRATAMIENTO EMPLEADO Y EVOLUCIÓN DE LOS ENFERMOS

Tras la hospitalización, aparte de medidas sintomáticas y destinadas a un ajuste adecuado de la situación respiratoria o hemodinámica, se empleó un protocolo de tratamiento basado en el empleo de corticosteroides, baricitinib y tocilizumab en las distintas situaciones clínicas y analíticas. Diversos ensayos realizados con anterioridad al inicio del presente trabajo habían demostrado la utilidad de estos fármacos. El estudio RECOVERY había comprobado el beneficio obtenido con dexametasona en la mejoría del pronóstico de la COVID-19²⁹². El ensayo COV-BARRIER demostró que baricitinib reducía la mortalidad por COVID-19 en un ensayo controlado con placebo²⁹³. Otro de los estudios RECOVERY permitió observar que los pacientes hospitalizados por COVID 19 que recibieron tocilizumab tenían menos probabilidades de ventilación mecánica invasiva o muerte a los 28 días²⁹⁴. En el momento de realización del trabajo no disponíamos de fármacos antivirales.

En resumen, este protocolo consistía en lo siguiente: Los pacientes con una fracción inspirada de oxígeno (SpO₂/FiO₂) < 315, y aquellos con elevación de reactantes de fase aguda (concentración sérica de ferritina > 1000 ng/ml o PCR > 100 mg/dL), iniciaron tratamiento con dexametasona 6 mg IV una vez al día durante un máximo de 10 días. En aquellos pacientes cuya hipoxemia no mejoró precozmente tras los corticosteroides, se añadió tocilizumab (80 mg/kg, máximo 600 mg), una dosis al día,

pudiendo repetir una segunda dosis en las 12 – 24 h siguientes. Alternativamente y a juicio del médico responsable de cada enfermo, se añadía baricitinib. Los pacientes que precisaron ventilación mecánica invasiva por SDRA grave y con un buen estado funcional previo al ingreso hospitalario, fueron ingresados en la UCI.

Como corresponde a un estudio observacional, el primer paso realizado en el análisis de resultados fue la observación de la adherencia o no al tratamiento estipulado. Efectivamente, puesto que la administración del mismo no era impositiva, sino que dependía de la decisión de cada uno de los médicos implicados en la atención de estos pacientes, la probabilidad de recibir los diferentes tratamientos fue evaluada vía análisis de índices de propensión hacia un determinado fármaco o combinación. Las variables explicativas en el caso de incluir al menos corticosteroides fueron el índice NEWS2 y la concentración sérica de ferritina, esto es, alteraciones gasométricas o hemodinámicas y parámetros inflamatorios. La variable independiente asociada al uso adicional de baricitinib fue uno de los parámetros inflamatorios, la concentración de PCR. Y finalmente, el uso de tocilizumab se asoció nuevamente al índice NEWS2 y a la concentración de PCR. Pudo comprobarse que las áreas bajo la curva de los modelos obtenidos por regresión logística de las variables explicativas eran superiores a 0,9 en el supuesto de incluir tratamiento inmunomodulador (corticoides aislados o asociados a tocilizumab y/o baricitinib) y a recibir en concreto tocilizumab. Dicho de otro modo, la práctica real de los facultativos que atendían a los enfermos con neumonía COVID-19 se adecuaban al protocolo previamente consensuado.

A pesar del tratamiento aplicado, siete pacientes necesitaron ingreso en UCI (8%) por insuficiencia respiratoria progresiva y, finalmente, fallecieron. La discusión acerca de los factores pronósticos será realizado en un apartado posterior.

La evolución tras tratamiento de los enfermos supervivientes fue evaluada inicialmente mediante un análisis de las modificaciones agudas ocurridas tras la instauración de cada uno de los bloques de tratamiento: corticoides aislados, corticoides más baricitinib y corticoides + tocilizumab (con o sin baricitinib). Estas modificaciones agudas no han sido evaluadas en estudios previos. Con independencia de la terapia empleada, a las 48 horas de su administración se observó, de modo significativo, un incremento de la cifra de linfocitos/mm³, un descenso de algunos de los parámetros inflamatorios (recuento de neutrófilos formadores de NETs, concentraciones séricas de PCR) y de coagulación (fibrinógeno), al tiempo que un aumento en los valores de plaquetas/mm³. En ninguno de los grupos constituidos en función del tratamiento, se detectó una modificación significativa de la relación neutrófilos/linfocitos o de la concentración de ferritina. Y, en el caso de las concentraciones de LDH y dímeros D, disminuyeron significativamente tras tratamiento con corticoides aislados o combinados con baricitinib; pero no lo hicieron en el grupo de enfermos con peor situación basal, aquellos que recibieron tocilizumab.

De cualquier modo, puede afirmarse que los diferentes tratamientos indujeron una mejoría en la situación inflamatoria y procoagulante. Sin embargo, y de mayor interés a nuestro juicio, a las 48 horas de aplicar el tratamiento, las condiciones de oxigenación de los enfermos no se habían modificado significativamente. Es posible especular que la mejoría de variables proinflamatorias y procoagulantes observadas precisaba de un tiempo superior a las 48 horas para normalizar los infiltrados neumónicos o las alteraciones endoteliales pulmonares. Y de hecho, los parámetros de oxigenación sí que habían mejorado significativamente incluso en el grupo tratado con

tocilizumab en el momento del alta (tras un tiempo mediano de 9 días desde el ingreso hospitalario).

El estudio incluyó el análisis de la evolución de los biomarcadores, con mediciones realizadas al alta hospitalaria y tras 14 días de ésta.

El recuento de neutrófilos que forman NETs fue significativamente menor en el momento del alta hospitalaria en los pacientes que sobrevivieron y continuó disminuyendo posteriormente. Más aún, como hemos comentado con anterioridad, dicha reducción se inició ya a las 48 horas de la administración de los tratamientos. Por el contrario, la actividad de la enzima responsable de su disolución, la DNAasa I, aumentó con respecto al momento de la admisión, sugiriendo una mayor actividad destinada a la eliminación de NETs. Se ha comprobado que la dexametasona inhibe la formación de NETs in vitro ²⁹⁵, aunque existen datos contradictorios en este sentido ²⁹⁶. El efecto del baricitinib o de tocilizumab en la formación de NETs no se conoce ²⁹⁷.

La evolución de los neutrófilos que forman NETs fue paralela a la seguida por los parámetros que indican inflamación (como LDH y PCR) y activación vascular (VCAM1, VEGF) e inversa a la de los parámetros de oxigenación (SpO2/FiO2). En cualquier caso, es interesante que los valores de neutrófilos que forman NETs y VCAM-1, 14 días después del alta hospitalaria permanecieron más altos que los de los controles sanos.

Los niveles de ferritina y dímero D no descendieron hasta 14 días después del alta en los tratados con baricitinib y tocilizumab; asumimos que esta mayor lentitud de evolución hacia la normalización está motivada por la mayor vida media de la ferritina y dímeros D (50-75 horas en el caso de la ferritina ²⁹⁸ y 6-8 horas en el del dímero D ²⁹⁹. Por otra parte, los valores de dímero D disminuyen al alta en enfermos tratados con

corticoides, pero a los 14 días vuelven a aumentar, probablemente en relación al efecto protrombótico del tratamiento con corticoides ²⁹⁹.

El aumento de VCAM-1 proporciona una base explicativa para los fenómenos trombóticos detectados en estos pacientes, principalmente, aunque no exclusivamente, durante el período agudo de la enfermedad ³⁰⁰. Además, la activación neutrofílica y endotelial persistente podría ser la base de las alteraciones que caracterizan al COVID prolongado, desarrollado por algunos de los pacientes ³⁰¹. Es necesario el análisis de estos parámetros en pacientes con COVID persistente para aclarar este aspecto.

8.4. FACTORES PRONÓSTICOS

Las tasas de mortalidad de COVID-19 se han establecido en un 0,3%-2,3% si consideramos a la totalidad de los pacientes; un 10%-23% para pacientes ingresados en el hospital (más del 60%, para los mayores de 80 años) ¹¹⁹, y del 37%-88% en pacientes que requieren ventilación mecánica u oxigenación por membrana extracorpórea (ECMO). En cualquier caso, las tasas de mortalidad varían entre las distintas cohortes, lo que puede reflejar diferencias en las pruebas diagnósticas e identificación de los casos ²⁰.

La mortalidad de la serie presentada fue del 8%, una de las menores de la bibliografía. En concreto y atendiendo a datos españoles correspondientes a un periodo de tiempo similar al estudiado en el presente trabajo, esta mortalidad fue del 17.2% ³⁰².

Entre los parámetros asociados a la evolución figuran las enfermedades preexistentes, fundamentalmente diabetes mellitus y obesidad, el estado clínico – fundamentalmente de oxigenación- basal y parámetros indicativos de una situación

inflamatoria o protrombótica ^{303 304 305}. Tras la aparición de los fármacos antivirales y de los moduladores de la respuesta inmune, la aplicación del tratamiento se ha incluido también entre los factores pronósticos ^{152 154 153 292 293 174}. La influencia del estado de vacunación ha sido asimismo considerada ¹⁴³.

El análisis de los factores que influían en el ingreso en UCI/mortalidad en nuestra serie fue realizado en dos momentos evolutivos: al ingreso y tras la aplicación de tratamientos.

Al ingreso, en el estudio bivalente, la presencia de diabetes mellitus tipo 2 y enfermedad cardiovascular previas, la situación de oxigenación, la escala NEWS2 y las concentraciones séricas de LDH y VCAM-1 fueron factores que diferenciaban significativamente a los enfermos que morían de los que sobrevivían. La diabetes mellitus tipo 2 y la enfermedad cardiovascular han sido consideradas en multitud de estudios como parámetros de mal pronóstico en enfermos con neumonía COVID-19 ^{306–309}. Así ocurrió también en nuestra serie (el 57% de los que fallecieron presentaba diabetes mellitus y/o enfermedad cardiovascular). Sin embargo, el estudio multivariante demostró que los parámetros independientemente asociados al pronóstico, entre los tomados en el momento del ingreso, fueron el índice NEWS2 y las concentraciones séricas de LDH y VCAM-1.

Varios de los factores incluidos en la escala NEWS2 (recordemos: frecuencia respiratoria, saturación de oxígeno, presión arterial sistólica, frecuencia cardíaca, nivel de conciencia y temperatura) son similares a los que forman parte de otras escalas pronósticas de enfermos con neumonía. Entre éstas, las más utilizadas son la escala CURB-65 y la PSI (*“Pneumonia Severity Index”*) ^{310,311}. Ambas escalas han demostrado en

otras series ser aplicables y buenos indicadores de gravedad en la neumonía COVID-19

³¹².

La LDH es una enzima catalizadora que se encuentra en diversos tejidos; se detectan elevadas concentraciones intracelulares en corazón, hígado, riñones, músculos, glóbulos rojos, cerebro y pulmones. El aumento de sus niveles séricos es un signo inespecífico de lesión de un órgano o tejido, ya sea por inflamación o necrosis ³¹³. Se detectan incrementos de su concentración en la neumonía comunitaria ³¹⁴. Como en nuestro estudio, su concentración sérica en el momento del ingreso ha sido considerada un factor pronóstico de la neumonía por SARS-CoV2 ³¹⁵.

La concentración basal de VCAM-1 (el significado de la elevación de esta última ha sido establecido con anterioridad en esta Discusión) ha sido considerada en algún estudio predictora desfavorable del curso evolutivo de la infección por SARS-CoV2 ²⁷⁶, como ocurrió en nuestro análisis.

Evidentemente, era posible considerar que la aplicación de uno u otro tratamiento podría modificar este factor de riesgo. Sin embargo, el hecho de que el protocolo se hubiera aplicado de un modo tan uniforme en función de la gravedad de los enfermos (propensity scores cercanos a la unidad) hacía poco probable esta alternativa. Y, de hecho, cuando se repitió el estudio multivariante incluyendo la necesidad de tratamiento inmunomodulador y el propensity score de haberlo aplicado, las variables que se incluían en el modelo multivariante continuaban siendo las concentraciones séricas de LDH y VCAM-1 y la puntuación NEWS2 en el momento del ingreso.

Este trabajo tiene al menos dos limitaciones. En primer lugar, se trata de un estudio unicéntrico; sin embargo, este aspecto, en la práctica clínica rutinaria, puede considerarse una fortaleza puesto que permite homogenizar los tratamientos y seguimientos: los enfermos infectados por SARS-CoV-2 son sistemáticamente incluidos por las Unidades de Medicina Interna/Enfermedades Infecciosas y Microbiología/Neumología en un protocolo uniforme de tratamiento y seguimiento. En segundo lugar, se trata de un trabajo realizado en un momento en el que la disponibilidad de los tratamientos antivirales no existía; se requieren estudios futuros de enfermos en los que el tratamiento incluya los diferentes antivirales y que cuenten con las variables analizadas en este caso, entre otras, para evaluar las fortalezas del presente análisis.

Aparte de la consideración de factores clínicos, inflamatorios, endoteliales, plaquetarios y de coagulación conjuntamente, el estudio tiene una fortaleza adicional, escasamente evaluada en artículos previos: el seguimiento prospectivo de los individuos, con valoraciones seriadas de los parámetros en estudio; y ello no sólo hasta el momento del alta, sino también durante el periodo de convalecencia, en el cual algunos de los fenómenos que limitan a los enfermos con COVID-19 aún están presentes.

En resumen, un aumento en la formación de NETs es evidente en individuos con neumonía por SARS-CoV-2 desde los primeros momentos de la enfermedad. Su formación se desarrolla en paralelo con la de otros marcadores inflamatorios y de activación endotelial, e inversamente a los parámetros de oxigenación de los individuos, respaldando un papel patogénico para los PMNs en esta entidad. Sin embargo, su importancia pronóstica no ha sido demostrada en nuestro trabajo, a diferencia de otros

estudios recientes ^{316–318}. En éstos, no obstante, la medición de NETs se realizó por métodos indirectos y la importancia de otros marcadores de oxigenación, inflamatorios, endoteliales, plaquetarios o de coagulación no fue considerada.

El hecho de que las variables independientemente asociadas al pronóstico fueran el índice NEWS2 y las concentraciones séricas de LDH y de VCAM-1 implica que los factores que influyen la evolución de la neumonía COVID-19 son los que representan la lesión del órgano diana (concentración sérica de LDH), establecen la existencia de una activación endotelial (VCAM-1) e indican la situación conjunta respiratoria y hemodinámica de los pacientes (índice NEWS2).

9.-CONCLUSIONES

En una muestra de enfermos hospitalizados debido a neumonía por SARS CoV-2 se concluye que:

1. Existe un incremento de los PMN formadores de NETs en pacientes con neumonía por SARS CoV-2, en comparación con sujetos sanos, ya en el momento del ingreso hospitalario. Esta elevación disminuye progresivamente, aunque no normaliza sus valores incluso tras dos semanas del alta hospitalaria. Y, al contrario, las concentraciones del enzima encargado de su eliminación, ADNasa I, se incrementan progresivamente hasta el alta hospitalaria.
2. El aumento de los PMN formadores de NETs se acompañó del aumento significativo de otros marcadores inflamatorios (concentraciones séricas de LDH y PCR) así como de aumento de parámetros de activación endotelial (VCAM1 y VEGF).
3. El recuento de PMN formadores de NETs y la concentración sérica de VCAM-1 se correlacionaron con la situación hemodinámica y respiratoria de los enfermos, medida por la escala NEWS2.
4. No hubo correlación entre el recuento de PMN formadores de NETs y la concentración de los parámetros de activación plaquetaria (PF4, P-selectina) ni de dímeros-D, lo que no nos permite establecer una posible asociación de las NETs con la cascada de la coagulación ni con los fenómenos trombóticos.
5. Los diferentes tratamientos administrados a los pacientes con neumonía por SARS CoV-2 (corticoides, baricitinib, tocilizumab) determinaron una mejoría de la

situación inflamatoria y procoagulante inmediata, aunque no de los parámetros de oxigenación, cuya mejoría fue más tardía.

6. La mortalidad de la serie fue relativamente baja (8%) en comparación a las publicadas en la literatura. Los parámetros implicados en el pronóstico en nuestra serie fueron la puntuación en la escala pronóstica NEWS2 y las concentraciones séricas de LDH y VCAM1.

Como corolario, podemos afirmar que

- a) Las NETs tendrían un papel patogénico en esta entidad, debido a la correlación existente entre las mismas y las variables indicativas de activación endotelial y oxigenación, reforzando el papel de los PMNs en la neumonía por SARS CoV-2.
- b) La activación endotelial, detectada a partir de las concentraciones séricas de VCAM-1, se mantiene incluso tras 14 días después del alta hospitalaria, lo que podría justificar el riesgo prolongado de eventos trombóticos en estos enfermos.
- c) Los factores implicados en el pronóstico son los que fisiopatológicamente contribuyen a la mortalidad en otros tipos de infección pulmonar: la situación respiratoria y hemodinámica, medida por la escala NEWS2, la activación endotelial y la necrosis celular.

10.– BIBLIOGRAFIA

1. World Health Organization. Novel coronavirus (2019-nCoV), situation report-1.
2. WHO. COVID-19 epidemiological update. 19 enero. Published 2024. Accessed February 6, 2024. <https://www.who.int/publications/m/item/covid-19-epidemiological-update---19-january-2024>
3. WHO. Statement on the fifteenth meeting of the IHR (2005) Emergency Committee on the COVID-19 pandemic. *WHO Director General's speeches*. 2023;(2005):1-6.
4. Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, et al. 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
5. Graham RL, Donaldson EF, Baric RS. A decade after SARS: Strategies for controlling emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol*. 2013;11(12):836-848. doi:10.1038/nrmicro3143
6. De Wit E, Van Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ. SARS and MERS: Recent insights into emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol*. 2016;14(8):523-534. doi:10.1038/nrmicro.2016.81
7. Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: An overview of their replication and pathogenesis. In: *Coronaviruses: Methods and Protocols*. Vol 1282. Springer New York; 2015:1-23. doi:10.1007/978-1-4939-2438-7_1
8. Paules CI, Marston HD, Fauci AS. Coronavirus Infections-More Than Just the Common Cold. *JAMA - Journal of the American Medical Association*. 2020;323(8):707-708. doi:10.1001/jama.2020.0757
9. Decaro N, Lorusso A. Novel human coronavirus (SARS-CoV-2): A lesson from animal coronaviruses. *Vet Microbiol*. 2020;244:108693. doi:10.1016/j.vetmic.2020.108693
10. Kandeel M, Ibrahim A, Fayez M, Al-Nazawi M. From SARS and MERS CoVs to SARS-CoV-2: Moving toward more biased codon usage in viral structural and nonstructural genes. *J Med Virol*. 2020;92(6):660-666. doi:10.1002/jmv.25754
11. Carod-Artal FJ. Neurological complications of coronavirus and COVID-19. *Rev Neurol*. 2020;70(9):311-322. doi:10.33588/RN.7009.2020179

12. Guo YR, Cao QD, Hong ZS, et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak- A n update on the status. *Mil Med Res*. 2020;7(1):11. doi:10.1186/s40779-020-00240-0
13. Li TW, Kenney AD, Park JG, et al. SARS-CoV-2 Nsp14 protein associates with IMPDH2 and activates NF- κ B signaling. *Front Immunol*. 2022;13:1007089. doi:10.3389/fimmu.2022.1007089
14. Eastman RT, Roth JS, Brimacombe KR, et al. Remdesivir: A Review of Its Discovery and Development Leading to Emergency Use Authorization for Treatment of COVID-19. *ACS Cent Sci*. 2020;6(5):672-683. doi:10.1021/ACSCENTSCI.0C00489
15. 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 (1979)*. 2020;367(6485):1444-1448. doi:10.1126/science.abb2762
16. 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
17. Cevik M, Kuppalli K, Kindrachuk J, Peiris M. Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2. *BMJ*. 2020;371:m3872. doi:10.1136/BMJ.M3862
18. Ministerio de Sanidad - Áreas - Informes de situación publicados durante la crisis sanitaria. Accessed February 6, 2024. <https://www.sanidad.gob.es/areas/alertasEmergenciasSanitarias/alertasActuals/nCov/evolucion/situacion.htm>
19. Instituto de Salud Carlos III. Informes COVID-19. 27 Marzo. Published 2020. Accessed July 20, 2023. <https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Paginas/InformesCOVID-19.aspx>
20. Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, Peacock SJ, Prescott HC. Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA* . 2020;324(8):782-793. doi:10.1001/jama.2020.12839
21. Banoei MM, Dinparastisaleh R, Zadeh AV, Mirsaeidi M. Machine-learning-based COVID-19 mortality prediction model and identification of patients at low and high risk of dying. *Crit Care*. 2021;25(1):328. doi:10.1186/S13054-021-03749-5
22. Instituto de Salud Carlos III. Informe nº 182. Situación de COVID-19 en España. 3 Julio. Published 2023. Accessed August 27, 2023.

<https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Paginas/InformesCOVID-19.aspx>

23. van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, et al. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *New England Journal of Medicine*. 2020;382(16):1564-1567. doi:10.1056/nejmc2004973
24. Scientific Brief: SARS-CoV-2 Transmission | CDC. *Centers for Disease Control and Prevention*. Published online 2021.
25. Ending Isolation and Precautions for People with COVID-19: Interim Guidance. Accessed September 19, 2023. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/duration-isolation.html>
26. García-Vidal C, Puerta-Alcalde P, Mateu A, et al. Prolonged viral replication in patients with hematologic malignancies hospitalized with COVID-19. *Haematologica*. 2022;107(7):1731-1735. doi:10.3324/haematol.2021.280407
27. Allotey J, Chatterjee S, Kew T, et al. SARS-CoV-2 positivity in offspring and timing of mother-to-child transmission: Living systematic review and meta-analysis. *The BMJ*. 2022;376.e067696. doi:10.1136/bmj-2021-067696
28. Dashraath P, Wong JLJ, Lim MXK, et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic and pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2020;222(6):521-531. doi:10.1016/j.ajog.2020.03.021
29. Gupta A, Madhavan M V., Sehgal K, et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nat Med*. 2020;26(7):1017-1032. doi:10.1038/s41591-020-0968-3
30. Tikellis C, Thomas MC. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) is a key modulator of the renin angiotensin system in health and disease. *Int J Pept*. 2012;2012:256294. doi:10.1155/2012/256294
31. Kuba K, Yamaguchi T, Penninger JM. Angiotensin-Converting Enzyme 2 (ACE2) in the Pathogenesis of ARDS in COVID-19. *Front Immunol*. 2021;12:732690.. doi:10.3389/fimmu.2021.732690
32. Strawn WB, Ferrario CM, Tallant EA. Angiotensin-(1-7) reduces smooth muscle growth after vascular injury. *Hypertension*. 1999;33(1 Pt 2):207-211. doi:10.1161/01.HYP.33.1.207
33. Paz Ocaranza M, Riquelme JA, García L, et al. Counter-regulatory renin–angiotensin system in cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol*. 2020;17(2):116-129. doi:10.1038/s41569-019-0244-8

34. Imai Y, Kuba K, Rao S, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure. *Nature*. 2005;436(7047):112-116. doi:10.1038/nature03712
35. Liu MY, Zheng B, Zhang Y, Li JP. Role and mechanism of angiotensin-converting enzyme 2 in acute lung injury in coronavirus disease 2019. *Chronic Dis Transl Med*. 2020;6(2):98-105. doi:10.1016/j.cdtm.2020.05.003
36. Amraei R, Rahimi N. COVID-19, Renin-Angiotensin System and Endothelial Dysfunction. *Cells*. 2020;9(7):1652. doi:10.3390/cells9071652
37. Jerjes-Sánchez C. Severe covid-19 disease and thromboinflammation. *Arch Cardiol Mex*. 2020;90(3):257-258. doi:10.24875/ACM.M20000075
38. Siddiqi HK, Mehra MR. COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: A clinical–therapeutic staging proposal. *Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2020;39(5):405-407. doi:10.1016/j.healun.2020.03.012
39. Team TNCPERE. The Epidemiological Characteristics of an Outbreak of 2019 Novel Coronavirus Diseases (COVID-19) — China, 2020. *China CDC Wkly*. 2020;2(8):113. Accessed October 5, 2023. /pmc/articles/PMC8392929/
40. Docherty AB, Harrison EM, Green CA, et al. Features of 20 133 UK patients in hospital with covid-19 using the ISARIC WHO Clinical Characterisation Protocol: prospective observational cohort study. *BMJ*. 2020;369:m1985. doi:10.1136/BMJ.M1985
41. COVID-19 - DynaMed. Accessed October 11, 2023. <https://www.dynamed-com.bvsspa.idm.oclc.org/condition/covid-19#BACKGROUND>
42. National Institutes of Health. Treatment Guidelines Panel. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Nih*. Published online 2023:1-243. <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/.%0Ahttps://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/>
43. World Health Organization. Clinical management of COVID-19: living guideline - 18 August 2023. Published online 2023:186.
44. Guan W jie, Ni Z yi, Hu Y, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020;382(18):1708-1720. doi:10.1056/NEJMOA2002032
45. Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, De Siati DR, et al. Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the

- coronavirus disease (COVID-19): a multicenter European study. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2020;277(8):2251-2261. doi:10.1007/S00405-020-05965-1
46. Clinical Spectrum | COVID-19 Treatment Guidelines. Accessed February 8, 2024. <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/overview/clinical-spectrum/>
 47. WHO. Therapeutics and COVID-19: living guideline. 10 noviembre . Published 2023. Accessed February 9, 2024. <https://app.magicapp.org/#/guideline/nBkO1E>
 48. Ning Q, Wu D, Wang X, et al. The mechanism underlying extrapulmonary complications of the coronavirus disease 2019 and its therapeutic implication. *Signal Transduct Target Ther*. 2022;7(1). doi:10.1038/s41392-022-00907-1
 49. Sun P, Qie S, Liu Z, Ren J, Li K, Xi J. Clinical characteristics of hospitalized patients with SARS-CoV-2 infection: A single arm meta-analysis. *J Med Virol*. 2020;92(6):612-617. doi:10.1002/jmv.25735
 50. Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients with 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA - Journal of the American Medical Association*. 2020;323(11):1061-1069. doi:10.1001/jama.2020.1585
 51. Wu C, Chen X, Cai Y, et al. Risk Factors Associated with Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients with Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med*. 2020;180(7):934-943. doi:10.1001/jamainternmed.2020.0994
 52. Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M, et al. Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes among 5700 Patients Hospitalized with COVID-19 in the New York City Area. *JAMA*. 2020;323(20):2052-2059. doi:10.1001/jama.2020.6775
 53. Cheng Y, Luo R, Wang K, et al. Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19. *Kidney Int*. 2020;97(5):829-838. doi:10.1016/J.KINT.2020.03.005
 54. Robbins-Juarez SY, Qian L, King KL, et al. Outcomes for Patients With COVID-19 and Acute Kidney Injury: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Kidney Int Rep*. 2020;5(8):1149-1160. doi:10.1016/J.EKIR.2020.06.013
 55. Hirsch JS, Ng JH, Ross DW, et al. Acute kidney injury in patients hospitalized with COVID-19. *Kidney Int*. 2020;98(1):209-218. doi:10.1016/J.KINT.2020.05.006

56. Mao R, Qiu Y, He JS, et al. Manifestations and prognosis of gastrointestinal and liver involvement in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020;5(7):667-678. doi:10.1016/S2468-1253(20)30126-6
57. Redd WD, Zhou JC, Hathorn KE, et al. Prevalence and Characteristics of Gastrointestinal Symptoms in Patients With Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection in the United States: A Multicenter Cohort Study. *Gastroenterology*. 2020;159(2):765-767.e2. doi:10.1053/J.GASTRO.2020.04.045
58. Zhang C, Shi L, Wang FS. Liver injury in COVID-19: management and challenges. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020;5(5):428-430. doi:10.1016/S2468-1253(20)30057-1
59. Terpos E, Ntanasis-Stathopoulos I, Elalamy I, et al. Hematological findings and complications of COVID-19. *Am J Hematol*. 2020;95(7):834-847. doi:10.1002/AJH.25829
60. Lippi G, Plebani M, Henry BM. Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: A meta-analysis. *Clin Chim Acta*. 2020;506:145-148. doi:10.1016/J.CCA.2020.03.022
61. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost*. 2020;18(4):844-847. doi:10.1111/JTH.14768
62. Guan W jie, Ni Z yi, Hu Y, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020;382(18):1708-1720. doi:10.1056/nejmoa2002032
63. Klok FA, Kruip MJHA, van der Meer NJM, et al. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res*. 2020;191:145-147. doi:10.1016/j.thromres.2020.04.013
64. Li J, Wang X, Chen J, Zuo X, Zhang H, Deng A. COVID-19 infection may cause ketosis and ketoacidosis. *Diabetes Obes Metab*. 2020;22(10):1935-1941. doi:10.1111/DOM.14057
65. Mao L, Jin H, Wang M, et al. Neurologic Manifestations of Hospitalized Patients with Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurol*. 2020;77(6):683-690. doi:10.1001/jamaneurol.2020.1127

66. Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020;323(11):1061-1069. doi:10.1001/JAMA.2020.1585
67. Oxley TJ, Mocco J, Majidi S, et al. Large-Vessel Stroke as a Presenting Feature of Covid-19 in the Young. *N Engl J Med*. 2020;382(20):e60. doi:10.1056/NEJMC2009787
68. Toscano G, Palmerini F, Ravaglia S, et al. Guillain-Barré Syndrome Associated with SARS-CoV-2. *N Engl J Med*. 2020;382(26):2574-2576. doi:10.1056/NEJMC2009191
69. Helms J, Kremer S, Merdji H, et al. Neurologic Features in Severe SARS-CoV-2 Infection. *N Engl J Med*. 2020;382(23):2268-2270. doi:10.1056/NEJMC2008597
70. Wu P, Duan F, Luo C, et al. Characteristics of Ocular Findings of Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Hubei Province, China. *JAMA Ophthalmol*. 2020;138(5):575-578. doi:10.1001/jamaophthalmol.2020.1291
71. Recalcati S. Cutaneous manifestations in COVID-19: a first perspective. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2020;34(5):e212-e213. doi:10.1111/JDV.16387
72. Jia JL, Kamceva M, Rao SA, Linos E. Cutaneous manifestations of COVID-19: A preliminary review. *J Am Acad Dermatol*. 2020;83(2):687-690. doi:10.1016/J.JAAD.2020.05.059
73. Galván Casas C, Català A, Carretero Hernández G, et al. Classification of the cutaneous manifestations of COVID-19: a rapid prospective nationwide consensus study in Spain with 375 cases. *Br J Dermatol*. 2020;183(1):71-77. doi:10.1111/BJD.19163
74. Lansbury L, Lim B, Baskaran V, Lim WS. Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J Infect*. 2020;81(2):266-275. doi:10.1016/j.jinf.2020.05.046
75. Rawson TM, Moore LSP, Zhu N, et al. Bacterial and Fungal Coinfection in Individuals With Coronavirus: A Rapid Review To Support COVID-19 Antimicrobial Prescribing. *Clin Infect Dis*. 2020;71(9):2459-2468. doi:10.1093/CID/CIAA530
76. Langford BJ, So M, Raybardhan S, et al. Bacterial co-infection and secondary infection in patients with COVID-19: a living rapid review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect*. 2020;26(12):1622-1629. doi:10.1016/J.CMI.2020.07.016

77. Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020;395(10223):507-513. doi:10.1016/S0140-6736(20)30211-7
78. Yang X, Yu Y, Xu J, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med*. 2020;8(5):475-481. doi:10.1016/S2213-2600(20)30079-5
79. Tadolini M, Codecasa LR, García-García JM, et al. Active tuberculosis, sequelae and COVID-19 co-infection: first cohort of 49 cases. *Eur Respir J*. 2020;56(1):2001398. doi:10.1183/13993003.01398-2020
80. Nasir N, Rehman F, Omair SF. Risk factors for bacterial infections in patients with moderate to severe COVID-19: A case-control study. *J Med Virol*. 2021;93(7):4564-4569. doi:10.1002/JMV.27000
81. Aldhaleei WA, Alnuaimi A, Bhagavathula AS. COVID-19 Induced Hepatitis B Virus Reactivation: A Novel Case From the United Arab Emirates. *Cureus*. 2020;12(6):e8645. doi:10.7759/CUREUS.8645
82. Xu R, Zhou Y, Cai L, et al. Co-reactivation of the human herpesvirus alpha subfamily (herpes simplex virus-1 and varicella zoster virus) in a critically ill patient with COVID-19. *Br J Dermatol*. 2020;183(6):1145-1147. doi:10.1111/BJD.19484
83. Stauffer WM, Alpern JD, Walker PF. COVID-19 and Dexamethasone: A Potential Strategy to Avoid Steroid-Related Strongyloides Hyperinfection. *JAMA*. 2020;324(7):623-624. doi:10.1001/JAMA.2020.13170
84. Jayaseelan K, Frishman WH. Multisystem Inflammatory Syndrome. *Cardiol Rev*. 2023;31(2):61-64. doi:10.1097/CRD.0000000000000487
85. Schlemmer F, Valentin S, Boyer L, et al. Respiratory recovery trajectories after severe-to-critical COVID-19: a 1-year prospective multicentre study. *Eur Respir J*. 2023;61(4):2201532. doi:10.1183/13993003.01532-2022
86. Daugherty SE, Guo Y, Heath K, et al. Risk of clinical sequelae after the acute phase of SARS-CoV-2 infection: retrospective cohort study. *BMJ*. 2021;373:n1098. doi:10.1136/BMJ.N1098
87. Cohen K, Ren S, Heath K, et al. Risk of persistent and new clinical sequelae among adults aged 65 years and older during the post-acute phase of SARS-CoV-

- 2 infection: retrospective cohort study. *BMJ*. 2022;376:e068414. doi:10.1136/BMJ-2021-068414
88. Nalbandian A, Sehgal K, Gupta A, et al. Post-acute COVID-19 syndrome. *Nat Med*. 2021;27(4):601-615. doi:10.1038/s41591-021-01283-z
 89. Abdel-Moneim A. COVID-19 Pandemic and Male Fertility: Clinical Manifestations and Pathogenic Mechanisms. *Biochemistry (Mosc)*. 2021;86(4):389-396. doi:10.1134/S0006297921040015
 90. Alvergne A, Boniface E, Darney B, et al. Associations Among Menstrual Cycle Length, Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), and Vaccination. *Obstet Gynecol*. 2024;143(1):83-91. doi:10.1097/AOG.0000000000005343
 91. Diagnostic testing for SARS-CoV-2 infection. Accessed July 21, 2023. <https://www.who.int/multi-media/details/diagnostic-testing-for-sars-cov-2-infection>
 92. Arons MM, Hatfield KM, Reddy SC, et al. Presymptomatic SARS-CoV-2 Infections and Transmission in a Skilled Nursing Facility. *N Engl J Med*. 2020;382(22):2081-2090. doi:10.1056/NEJMOA2008457
 93. Bullard J, Dust K, Funk D, et al. Predicting Infectious Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 From Diagnostic Samples. *Clin Infect Dis*. 2020;71(10):2663-2666. doi:10.1093/CID/CIAA638
 94. Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection. Accessed July 21, 2023. <https://www.who.int/publications/i/item/antigen-detection-in-the-diagnosis-of-sars-cov-2infection-using-rapid-immunoassays>
 95. Considerations for SARS-CoV-2 Antigen Testing for Healthcare Providers Testing Individuals in the Community | CDC. Accessed October 11, 2023. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antigen-tests-guidelines.html>
 96. World Health Organization. Clinical management of COVID-19: living guideline - 18 August 2023. Published online 2023:186. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/362783/WHO-2019-nCoV-Clinical-2022.2-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y%0Ahttps://fi-admin.bvsalud.org/document/view/85mxm>
 97. Directrices provisionales para muestras clínicas de COVID-19 | Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. Accessed February 7, 2024.

<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/guidelines-clinical-specimens.html>

98. Hanson KE, Caliendo AM, Arias CA, et al. Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Diagnosis of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Serologic Testing. *Clinical Infectious Diseases*. Published online September 12, 2020. doi:10.1093/CID/CIAA1343
99. WHO. Clinical management of COVID-19: living guideline. 18 Agosto. Published 2023. Accessed February 7, 2024. <https://app.magicapp.org/#/guideline/j1WBYN>
100. Interim Guidelines for COVID-19 Antibody Testing | CDC. Accessed October 12, 2023. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/testing/antibody-tests-guidelines.html>
101. Hanson KE, Caliendo AM, Arias CA, et al. The Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Diagnosis of COVID-19: Molecular Diagnostic Testing. *Clinical Infectious Diseases*. Published online January 22, 2021. doi:10.1093/CID/CIAB048
102. SARS-CoV-2 Viral Mutations: Impact on COVID-19 Tests | FDA. Accessed July 21, 2023. https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-covid-19-and-medical-devices/sars-cov-2-viral-mutations-impact-covid-19-tests?utm_medium=email&utm_source=govdelivery
103. Rodriguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Gutiérrez-Ocampo E, et al. Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Travel Med Infect Dis*. 2020;34:101623. doi:10.1016/J.TMAID.2020.101623
104. Jimeno S, Ventura PS, Castellano JM, et al. Prognostic implications of neutrophil-lymphocyte ratio in COVID-19. *Eur J Clin Invest*. 2021;51(1):e13404. doi:10.1111/eci.13404
105. Berger JS, Kunichoff D, Adhikari S, et al. Prevalence and Outcomes of D-Dimer Elevation in Hospitalized Patients With COVID-19. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2020;40(10):2539-2547. doi:10.1161/ATVBAHA.120.314872
106. Zhou F, Yu T, Du R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020;395(10229):1054-1062. doi:10.1016/S0140-6736(20)30566-3

107. Tan C, Huang Y, Shi F, et al. C-reactive protein correlates with computed tomographic findings and predicts severe COVID-19 early. *J Med Virol*. 2020;92(7):856-862. doi:10.1002/JMV.25871
108. Wu C, Chen X, Cai Y, et al. Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med*. 2020;180(7):934-943. doi:10.1001/JAMAINTERNMED.2020.0994
109. Fan BE, Chong VCL, Chan SSW, et al. Hematologic parameters in patients with COVID-19 infection. *Am J Hematol*. 2020;95(6):E131-E134. doi:10.1002/AJH.25774
110. Chandler CM, Reid MC, Cherian S, Sabath DE, Edlefsen KL. Comparison of Blood Counts and Markers of Inflammation and Coagulation in Patients With and Without COVID-19 Presenting to the Emergency Department in Seattle, WA. *Am J Clin Pathol*. 2021;156(2):185-197. doi:10.1093/AJCP/AQAB052
111. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *The Lancet*. 2020;395(10229):1033-1034. doi:10.1016/S0140-6736(20)30628-0
112. 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
113. Kanne JP, Bai H, Bernheim A, et al. COVID-19 imaging: What we know now and what remains unknown. *Radiology*. 2021;299(3):E262-E279. doi:10.1148/RADIOL.2021204522/ASSET/IMAGES/LARGE/RADIOL.2021204522.FIG8C.JPEG
114. Pivetta E, Goffi A, Tizzani M, et al. Lung Ultrasonography for the Diagnosis of SARS-CoV-2 Pneumonia in the Emergency Department. *Ann Emerg Med*. 2021;77(4):385-394. doi:10.1016/J.ANNEMERGEMED.2020.10.008
115. Mohamed MFH, Al-Shokri S, Yousaf Z, et al. Frequency of Abnormalities Detected by Point-of-Care Lung Ultrasound in Symptomatic COVID-19 Patients: Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Trop Med Hyg*. 2020;103(2):815-821. doi:10.4269/AJTMH.20-0371
116. Ebrahimzadeh S, Islam N, Dawit H, et al. Thoracic imaging tests for the diagnosis of COVID-19. *Cochrane Database Syst Rev*. 2022;5(5):CD13639. doi:10.1002/14651858.CD013639.PUB5

117. Yang X, Yu Y, Xu J, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med*. 2020;8(5):475-481. doi:10.1016/S2213-2600(20)30079-5
118. Zheng Z, Peng F, Xu B, et al. Risk factors of critical & mortal COVID-19 cases: A systematic literature review and meta-analysis. *Journal of Infection*. 2020;81(2):e16-e25. doi:10.1016/j.jinf.2020.04.021
119. Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M, et al. Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes among 5700 Patients Hospitalized with COVID-19 in the New York City Area. *JAMA*. 2020;323(20):2052-2059. doi:10.1001/jama.2020.6775
120. Bohrmann B, Massa MS, Ross S, Lewington S, Lacey B. Body Mass Index and Risk of Hospitalization or Death Due to Lower or Upper Respiratory Tract Infection. *JAMA*. 2023;329(17):1512-1514. doi:10.1001/jama.2023.2619
121. Zhang J jin, Dong X, Liu G hui, Gao Y dong. Risk and Protective Factors for COVID-19 Morbidity, Severity, and Mortality. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2023;64(1):90-107. doi:10.1007/s12016-022-08921-5
122. Williamson EJ, McDonald HI, Bhaskaran K, et al. Risks of covid-19 hospital admission and death for people with learning disability: Population based cohort study using the OpenSAFELY platform. *The BMJ*. 2021;374:n1592. doi:10.1136/bmj.n1592
123. Vo AD, La J, Wu JTY, et al. Factors Associated With Severe COVID-19 Among Vaccinated Adults Treated in US Veterans Affairs Hospitals. *JAMA Netw Open*. 2022;5(10):E2240037. doi:10.1001/JAMANETWORKOPEN.2022.40037
124. McConeghy KW, White EM, Blackman C, et al. Effectiveness of a Second COVID-19 Vaccine Booster Dose Against Infection, Hospitalization, or Death Among Nursing Home Residents - 19 States, March 29-July 25, 2022. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2022;71(39):1235-1238. doi:10.15585/MMWR.MM7139A2
125. Boyarsky BJ, Werbel WA, Avery RK, et al. Antibody Response to 2-Dose SARS-CoV-2 mRNA Vaccine Series in Solid Organ Transplant Recipients. *JAMA*. 2021;325(21):2204-2206. doi:10.1001/JAMA.2021.7489
126. Werbel WA, Weld ED, Advani SD, Patel PK, Sundaram ME, Phadke VK. Your Outpatient has Coronavirus Disease 2019: What Are the Treatment Options in the Current Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Variant Climate? *Clin Infect Dis*. 2023;77(1):32-37. doi:10.1093/CID/CIAD178

127. Hippisley-Cox J, Khunti K, Sheikh A, Nguyen-Van-Tam JS, Coupland CAC. Risk prediction of covid-19 related death or hospital admission in adults testing positive for SARS-CoV-2 infection during the omicron wave in England (QCOVID4): cohort study. *BMJ*. 2023;381:e072976.. doi:10.1136/BMJ-2022-072976
128. Berenguer J, Borobia AM, Ryan P, et al. Development and validation of a prediction model for 30-day mortality in hospitalised patients with COVID-19: the COVID-19 SEIMC score. *Thorax*. 2021;76(9):920-929. doi:10.1136/THORAXJNL-2020-216001
129. Myrstad M, Ihle-Hansen H, Tveita AA, et al. National Early Warning Score 2 (NEWS2) on admission predicts severe disease and in-hospital mortality from Covid-19 - A prospective cohort study. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*. 2020;28(1):1-8. doi:10.1186/s13049-020-00764-3
130. Gidari A, De Socio GV, Sabbatini S, Francisci D. Predictive value of National Early Warning Score 2 (NEWS2) for intensive care unit admission in patients with SARS-CoV-2 infection. *Infect Dis*. 2020;52(10):698-704. doi:10.1080/23744235.2020.1784457
131. Sixt T, Moretto F, Devilliers H, et al. The usefulness of NEWS2 at day 7 of hospitalization in predicting COVID-19 evolution and as an early endpoint in therapeutic trials. *J Infec*. 2021;82(2):282-327. doi:10.1016/j.jinf.2020.09.034
132. Ji D, Zhang D, Xu J, et al. Prediction for Progression Risk in Patients With COVID-19 Pneumonia: The CALL Score. *Clinical Infectious Diseases*. 2020;71(6):1393-1399. doi:10.1093/CID/CIAA414
133. Grifoni E, Valoriani A, Cei F, et al. The CALL Score for Predicting Outcomes in Patients With COVID-19. *Clin Infect Dis*. 2021;72(1):182-183. doi:10.1093/CID/CIAA686
134. Gong J, Ou J, Qiu X, et al. A Tool for Early Prediction of Severe Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Multicenter Study Using the Risk Nomogram in Wuhan and Guangdong, China. *Clin Infect Dis*. 2020;71(15):833-840. doi:10.1093/CID/CIAA443
135. Ena J, Segura-Heras J V., Fonseca-Aizpuru EM, et al. Derivation and validation of a risk score for admission to the Intensive Care Unit in patients with COVID-19. *Rev Clin Esp*. 2022;222(1):1-12. doi:10.1016/j.rce.2021.06.003
136. Brown SM, Duggal A, Hou PC, et al. Nonlinear imputation of $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ from $\text{SpO}_2/\text{FiO}_2$ among mechanically ventilated patients in the ICU: A prospective,

- observational study. *Crit Care Med*. 2017;45(8):1317-1324.
doi:10.1097/CCM.0000000000002514
137. Rice TW, Wheeler AP, Bernard GR, Hayden DL, Schoenfeld DA, Ware LB. Comparison of the SpO₂/FIO₂ ratio and the PaO₂/FIO₂ ratio in patients with acute lung injury or ARDS. *Chest*. 2007;132(2):410-417. doi:10.1378/chest.07-0617
 138. Petrilli CM, Jones SA, Yang J, et al. Factors associated with hospital admission and critical illness among 5279 people with coronavirus disease 2019 in New York City: prospective cohort study. *BMJ*. 2020;369:m1966. doi:10.1136/BMJ.M1966
 139. Li X, Xu S, Yu M, et al. Risk factors for severity and mortality in adult COVID-19 inpatients in Wuhan. *J Allergy Clin Immunol*. 2020;146(1):110-118. doi:10.1016/J.JACI.2020.04.006
 140. Weber S, Hellmuth JC, Scherer C, Muenchhoff M, Mayerle J, Gerbes AL. Liver function test abnormalities at hospital admission are associated with severe course of SARS-CoV-2 infection: a prospective cohort study. *Gut*. 2021;70(10):1925-1932. doi:10.1136/GUTJNL-2020-323800
 141. Huang G, Kovalic AJ, Graber CJ. Prognostic Value of Leukocytosis and Lymphopenia for Coronavirus Disease Severity. *Emerg Infect Dis*. 2020;26(8):1839-1841. doi:10.3201/EID2608.201160
 142. Wu S, Du Z, Shen S, et al. Identification and Validation of a Novel Clinical Signature to Predict the Prognosis in Confirmed Coronavirus Disease 2019 Patients. *Clin Infect Dis*. 2020;71(12):3154-3162. doi:10.1093/CID/CIAA793
 143. Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias. Información científica técnica. Parámetros epidemiológicos. *Ministerio de Sanidad*. Published online 2022:1-27.
https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/20220113_EPIDEMIOLOGIA.pdf
 144. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. 2020;323(13):1239-1242. doi:10.1001/JAMA.2020.2648
 145. Zelner J, Trangucci R, Naraharisetti R, et al. Racial Disparities in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Mortality Are Driven by Unequal Infection Risks. *Clin Infect Dis*. 2021;72(5):E88-E95. doi:10.1093/CID/CIAA1723

146. Bhimraj A, Morgan RL, Shumaker AH, Baden L, Cheng VC, Edwards KM, Gallagher JC, Gandhi RT, Muller WJ, Nakamura MM, O'Horo JC, Shafer RW, Shoham S, Murad MH, Mustafa RA, Sultan S FYY. Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Treatment and Management of Patients with COVID-19. *Infectious Diseases Society of America*. 2023;(Version 11.0.0.).
147. Wang M, Cao R, Zhang L, et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Res*. 2020;30(3):269-271. doi:10.1038/S41422-020-0282-0
148. Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, et al. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 — Preliminary Report. *N Engl J Med*. Published online May 22, 2020.
149. Ali K, Azher T, Baqi M, et al. Remdesivir for the treatment of patients in hospital with COVID-19 in Canada: a randomized controlled trial. *CMAJ*. 2022;194(7):E242-E251. doi:10.1503/CMAJ.211698
150. Ader F, Bouscambert-Duchamp M, Hites M, et al. Remdesivir plus standard of care versus standard of care alone for the treatment of patients admitted to hospital with COVID-19 (DisCoVeRy): a phase 3, randomised, controlled, open-label trial. *Lancet Infect Dis*. 2022;22(2):209-221. doi:10.1016/S1473-3099(21)00485-0
151. Henao-Restrepo AM, Pan H, Peto R, et al. Remdesivir and three other drugs for hospitalised patients with COVID-19: final results of the WHO Solidarity randomised trial and updated meta-analyses. *Lancet*. 2022;399(10339):1941-1953. doi:10.1016/S0140-6736(22)00519-0
152. Mehta RM, Bansal S, Bysani S, Kalpakam H. A shorter symptom onset to remdesivir treatment (SORT) interval is associated with a lower mortality in moderate-to-severe COVID-19: A real-world analysis. *Int J Infect Dis*. 2021;106:71-77. doi:10.1016/J.IJID.2021.02.092
153. Gottlieb RL, Vaca CE, Paredes R, et al. Early Remdesivir to Prevent Progression to Severe Covid-19 in Outpatients. *New England Journal of Medicine*. 2022;386(4):305-315. doi:10.1056/nejmoa2116846
154. Hammond J, Leister-Tebbe H, Gardner A, et al. Oral Nirmatrelvir for High-Risk, Nonhospitalized Adults with Covid-19. *New England Journal of Medicine*. 2022;386(15):1397-1408. doi:10.1056/nejmoa2118542
155. Jayk Bernal A, Gomes da Silva MM, Musungaie DB, et al. Molnupiravir for Oral Treatment of Covid-19 in Nonhospitalized Patients. *N Engl J Med*. 2022;386(6):509-520. doi:10.1056/NEJMOA2116044

156. Pfizer Reports Additional Data on PAXLOVID™ Supporting Upcoming New Drug Application Submission to U.S. FDA | Pfizer. Accessed February 8, 2024. <https://www.pfizer.com/news/press-release/press-release-detail/pfizer-reports-additional-data-paxlovidtm-supporting>
157. Ganatra S, Dani SS, Ahmad J, et al. Oral Nirmatrelvir and Ritonavir in Nonhospitalized Vaccinated Patients With Coronavirus Disease 2019. *Clin Infect Dis*. 2023;76(4):563-572. doi:10.1093/CID/CIAC673
158. Arbel R, Wolff Sagy Y, Hoshen M, et al. Nirmatrelvir Use and Severe Covid-19 Outcomes during the Omicron Surge. *N Engl J Med*. 2022;387(9):790-798. doi:10.1056/NEJMOA2204919
159. Fischer WA, Eron JJ, Holman W, et al. A phase 2a clinical trial of molnupiravir in patients with COVID-19 shows accelerated SARS-CoV-2 RNA clearance and elimination of infectious virus. *Sci Transl Med*. 2022;14(628):eabl7430. doi:10.1126/SCITRANSLMED.ABL7430
160. Kabinger F, Stiller C, Schmitzová J, et al. Mechanism of molnupiravir-induced SARS-CoV-2 mutagenesis. *Nat Struct Mol Biol*. 2021;28(9):740-746. doi:10.1038/S41594-021-00651-0
161. Zhou S, Hill CS, Sarkar S, et al. β -d-N4-hydroxycytidine Inhibits SARS-CoV-2 Through Lethal Mutagenesis But Is Also Mutagenic To Mammalian Cells. *J Infect Dis*. 2021;224(3):415-419. doi:10.1093/INFDIS/JIAB247
162. Butler CC, Hobbs FDR, Gbinigie OA, et al. Molnupiravir plus usual care versus usual care alone as early treatment for adults with COVID-19 at increased risk of adverse outcomes (PANORAMIC): an open-label, platform-adaptive randomised controlled trial. *Lancet*. 2023;401(10373):281-293. doi:10.1016/S0140-6736(22)02597-1
163. Fountain-Jones NM, Vanhaeften R, Williamson J, et al. Antiviral treatments lead to the rapid accrual of hundreds of SARS-CoV-2 mutations in immunocompromised patients. *medRxiv*. Published online December 22, 2022:2022.12.21.22283811. doi:10.1101/2022.12.21.22283811
164. RECOVERY Collaborative Group., Horby P, Lim WS, Emberson JR et al. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19. *N Engl J Med*. 2021;384(8):693-704. doi:10.1056/nejmoa2021436
165. Rosas IO, Bräu N, Waters M, et al. Tocilizumab in Hospitalized Patients with Severe Covid-19 Pneumonia. *New England Journal of Medicine*. 2021;384(16):1503-1516. doi:10.1056/nejmoa2028700

166. Salama C, Han J, Yau L, et al. Tocilizumab in Patients Hospitalized with Covid-19 Pneumonia. *New England Journal of Medicine*. 2021;384(1):20-30. doi:10.1056/nejmoa2030340
167. Rosas IO, Diaz G, Gottlieb RL, et al. Tocilizumab and remdesivir in hospitalized patients with severe COVID-19 pneumonia: a randomized clinical trial. *Intensive Care Med*. 2021;47(11):1258-1270. doi:10.1007/s00134-021-06507-x
168. Investigators TRC. Interleukin-6 Receptor Antagonists in Critically Ill Patients with Covid-19. *New England Journal of Medicine*. 2021;384(16):1491-1502. doi:10.1056/nejmoa2100433
169. Abani O, Abbas A, Abbas F, et al. Tocilizumab in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial. *Lancet*. 2021;397(10285):1637-1645. doi:10.1016/S0140-6736(21)00676-0
170. Kalil AC, Patterson TF, Mehta AK, et al. Baricitinib plus Remdesivir for Hospitalized Adults with Covid-19. *N Engl J Med*. 2021;384(9):795-807. doi:10.1056/nejmoa2031994
171. Marconi VC, Ramanan A V., de Bono S, et al. Efficacy and safety of baricitinib for the treatment of hospitalised adults with COVID-19 (COV-BARRIER): a randomised, double-blind, parallel-group, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet Respir Med*. 2021;9(12):1407-1418. doi:10.1016/S2213-2600(21)00331-3
172. WHO recommends two new drugs to treat COVID-19. Accessed October 22, 2023. <https://www.who.int/news/item/14-01-2022-who-recommends-two-new-drugs-to-treat-covid-19>
173. Kyriazopoulou E, Poulakou G, Milionis H, et al. Early treatment of COVID-19 with anakinra guided by soluble urokinase plasminogen receptor plasma levels: a double-blind, randomized controlled phase 3 trial. *Nat Med*. 2021;27(10):1752-1760. doi:10.1038/s41591-021-01499-z
174. Wang X, Guo X, Xin Q, et al. Neutralizing Antibody Responses to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 in Coronavirus Disease 2019 Inpatients and Convalescent Patients. *Clin Infect Dis*. 2020;71(10):2688-2694. doi:10.1093/CID/CIAA721
175. Lacombe K, Hueso T, Porcher R, et al. COVID-19 convalescent plasma to treat hospitalised COVID-19 patients with or without underlying immunodeficiency: a randomized trial. *medRxiv*. Published online October 5, 2023:2022.08.09.22278329. doi:10.1101/2022.08.09.22278329

176. Joyner MJ, Carter RE, Senefeld JW, et al. Convalescent Plasma Antibody Levels and the Risk of Death from Covid-19. *N Engl J Med*. 2021;384(11):1015-1027. doi:10.1056/NEJMOA2031893
177. Salazar E, Christensen PA, Graviss EA, et al. Significantly Decreased Mortality in a Large Cohort of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Patients Transfused Early with Convalescent Plasma Containing High-Titer Anti-Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Spike Protein IgG. *Am J Pathol*. 2021;191(1):90-107. doi:10.1016/J.AJPAT.2020.10.008
178. Alhazzani W, Møller MH, Arabi YM, et al. Surviving Sepsis Campaign: guidelines on the management of critically ill adults with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Intensive Care Med*. 2020;46(5):854-887. doi:10.1007/S00134-020-06022-5
179. Sciscent BY, Eisele CD, Ho L, King SD, Jain R, Golamari RR. COVID-19 reinfection: the role of natural immunity, vaccines, and variants. *J Community Hosp Intern Med Perspect*. 2021;11(6):733-739. doi:10.1080/20009666.2021.1974665
180. Goldberg Y, Mandel M, Bar-On YM, et al. Protection and Waning of Natural and Hybrid Immunity to SARS-CoV-2. *N Engl J Med*. 2022;386(23):2201-2212. doi:10.1056/nejmoa2118946
181. Lumley SF, O'Donnell D, Stoesser NE, et al. Antibody Status and Incidence of SARS-CoV-2 Infection in Health Care Workers. *N Engl J Med*. 2021;384(6):533-540. doi:10.1056/nejmoa2034545
182. Sun J, Zheng Q, Madhira V, et al. Association Between Immune Dysfunction and COVID-19 Breakthrough Infection After SARS-CoV-2 Vaccination in the US. *JAMA Intern Med*. 2022;182(2):153-162. doi:10.1001/JAMAINTERNMED.2021.7024
183. Antonelli M, Penfold RS, Merino J, et al. Risk factors and disease profile of post-vaccination SARS-CoV-2 infection in UK users of the COVID Symptom Study app: a prospective, community-based, nested, case-control study. *Lancet Infect Dis*. 2022;22(1):43-55. doi:10.1016/S1473-3099(21)00460-6
184. Wibmer CK, Ayres F, Hermanus T, et al. SARS-CoV-2 501Y.V2 escapes neutralization by South African COVID-19 donor plasma. *bioRxiv*. Published online March 1, 2021:2021.01.18.427166. doi:10.1101/2021.01.18.427166
185. Tarhini H, Recoing A, Bridier-Nahmias A, et al. Long-Term Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Infectiousness Among Three Immunocompromised Patients: From Prolonged Viral Shedding to SARS-CoV-2 Superinfection. *J Infect Dis*. 2021;223(9):1522-1527. doi:10.1093/INFDIS/JIAB075

186. Qutub M, Aldabbagh Y, Mehdawi F, et al. Duration of viable SARS-CoV-2 shedding from respiratory tract in different human hosts and its impact on isolation discontinuation policies revision; a narrative review. *Clin Infect Pract*. 2022;13:100140. doi:10.1016/J.CLINPR.2022.100140
187. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Treatment & Management: Approach Considerations, Medical Care, Prevention. Accessed February 9, 2024. <https://emedicine.medscape.com/article/2500114-treatment#d8?form=fpf>
188. Leung NHL, Chu DKW, Shiu EYC, et al. Respiratory virus shedding in exhaled breath and efficacy of face masks. *Nat Med*. 2020;26(5):676-680. doi:10.1038/S41591-020-0843-2
189. 9º Informe de Farmacovigilancia sobre Vacunas COVID-19 | Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Accessed February 8, 2024. <https://www.aemps.gob.es/informa/9o-informe-de-farmacovigilancia-sobre-vacunas-covid-19/>
190. Monserrat Sanz J, Gómez Lahoz AM, Sosa Reina MD, Prieto Martín A. Introducción al sistema inmune. Componentes celulares del sistema inmune innato. *Medicine*. 2017;12(24):1369-1378. doi:10.1016/J.MED.2016.12.006
191. Nathan C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Nat Rev Immunol* 2006 6:3. 2006;6(3):173-182. doi:10.1038/NRI1785
192. Abbas AK LAPS. *Cellular and Molecular Immunology*. 6th ed. Saunders Elsevier Inc.; 2010.
193. Barr FD, Ochsenbauer C, Wira CR, Rodriguez-Garcia M. Neutrophil extracellular traps prevent HIV infection in the female genital tract. *Mucosal Immunol*. 2018;11(5):1420-1428. doi:10.1038/S41385-018-0045-0
194. Takei H, Araki A, Watanabe H, Ichinose A, Sendo F. Rapid killing of human neutrophils by the potent activator phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) accompanied by changes different from typical apoptosis or necrosis. *J Leukoc Biol*. 1996;59(2):229-240. doi:10.1002/JLB.59.2.229
195. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*. 2004;303(5663):1532-1535. doi:10.1126/SCIENCE.1092385
196. Grayson PC, Kaplan MJ. At the Bench: Neutrophil extracellular traps (NETs) highlight novel aspects of innate immune system involvement in autoimmune diseases. *J Leukoc Biol*. 2016;99(2):253-264. doi:10.1189/jlb.5bt0615-247r

197. Borges L, Pithon-Curi TC, Curi R, Hatanaka E. COVID-19 and Neutrophils: The Relationship between Hyperinflammation and Neutrophil Extracellular Traps. *Mediators Inflamm.* 2020;2020:8829674. doi:10.1155/2020/8829674
198. Gupta S, Kaplan MJ. The role of neutrophils and NETosis in autoimmune and renal diseases. *Nat Rev Nephrol.* 2016;12(7):402-413. doi:10.1038/NRNEPH.2016.71
199. Zhu Y, Chen X, Liu X. NETosis and Neutrophil Extracellular Traps in COVID-19: Immunothrombosis and Beyond. *Front Immunol.* 2022;13:838011. doi:10.3389/FIMMU.2022.838011
200. Sørensen OE, Borregaard N. Neutrophil extracellular traps - the dark side of neutrophils. *J Clin Invest.* 2016;126(5):1612-1620. doi:10.1172/JCI84538
201. Jensen S, Thomsen AR. Sensing of RNA viruses: a review of innate immune receptors involved in recognizing RNA virus invasion. *J Virol.* 2012;86(6):2900-2910. doi:10.1128/JVI.05738-11
202. Mohamed Khosroshahi L, Rokni M, Mokhtari T, Noorbakhsh F. Immunology, immunopathogenesis and immunotherapeutics of COVID-19; an overview. *Int Immunopharmacol.* 2021;93:107364. doi:10.1016/J.INTIMP.2020.107364
203. Park A, Iwasaki A. Type I and Type III Interferons - Induction, Signaling, Evasion, and Application to Combat COVID-19. *Cell Host Microbe.* 2020;27(6):870-878. doi:10.1016/J.CHOM.2020.05.008
204. Jamilloux Y, Henry T, Belot A, et al. Should we stimulate or suppress immune responses in COVID-19? Cytokine and anti-cytokine interventions. *Autoimmun Rev.* 2020;19(7):102567. doi:10.1016/j.autrev.2020.102567
205. Diamond MS, Kanneganti TD. Innate immunity: the first line of defense against SARS-CoV-2. *Nat Immunol.* 2022;23(2):165-176. doi:10.1038/S41590-021-01091-0
206. Osman MS, van Eeden C, Cohen Tervaert JW. Fatal COVID-19 infections: Is NK cell dysfunction a link with autoimmune HLH? *Autoimmun Rev.* 2020;19(7):102561.. doi:10.1016/J.AUTREV.2020.102561
207. Li Q, Wang Y, Sun Q, et al. Immune response in COVID-19: what is next? *Cell Death Differ.* 2022;29(6):1107-1122. doi:10.1038/S41418-022-01015-X

208. Poland GA, Ovsyannikova IG, Kennedy RB. SARS-CoV-2 immunity: review and applications to phase 3 vaccine candidates. *The Lancet*. 2020;396(10262):1595-1606. doi:10.1016/S0140-6736(20)32137-1
209. Huang G, Kovalic AJ, Graber CJ. Prognostic value of leukocytosis and lymphopenia for coronavirus disease severity. *Emerg Infect Dis*. 2020;26(8):1839-1841. doi:10.3201/eid2608.201160
210. Bellelli V, D'Ettorre G, Celani L, Borrazzo C, Ceccarelli G, Venditti M. Clinical significance of lymphocytopenia in patients hospitalized with pneumonia caused by influenza virus. *Crit Care*. 2019;23(1):330. doi:10.1186/S13054-019-2608-1
211. Tahtasakal CA, Oncul A, Sevgi DY, et al. Could we predict the prognosis of the COVID-19 disease? *J Med Virol*. 2021;93(4):2420-2430. doi:10.1002/jmv.26751
212. Al-kuraishy HM, Al-Gareeb AI, Alzahrani KJ, Alexiou A, Batiha GES. Niclosamide for Covid-19: bridging the gap. *Mol Biol Rep*. 2021;48(12):8195-8202. doi:10.1007/s11033-021-06770-7
213. Liu J, Liu Y, Xiang P, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts critical illness patients with 2019 coronavirus disease in the early stage. *J Transl Med*. 2020;18(1):206. doi:10.1186/s12967-020-02374-0
214. Merad M, Martin JC. Author Correction: Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages (Nature Reviews Immunology, (2020), 20, 6, (355-362), 10.1038/s41577-020-0331-4). *Nat Rev Immunol*. 2020;20(7):448. doi:10.1038/s41577-020-0353-y
215. Fajgenbaum DC, June CH. Cytokine Storm. *New England Journal of Medicine*. 2020;383(23):2255-2273. doi:10.1056/nejmra2026131
216. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *The Lancet*. 2020;395(10229):1033-1034. doi:10.1016/S0140-6736(20)30628-0
217. Klok FA, Kruip MJHA, van der Meer NJM, et al. Confirmation of the high cumulative incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19: An updated analysis. *Thromb Res*. 2020;191:148-150. doi:10.1016/j.thromres.2020.04.041
218. Zuo Y, Yalavarthi S, Shi H, et al. Neutrophil extracellular traps in COVID-19. *JCI Insight*. 2020;5(11). doi:10.1172/jci.insight.138999

219. Barnes BJ, Adrover JM, Baxter-Stoltzfus A, et al. Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps. *Journal of Experimental Medicine*. 2020;217(6):e20200652. doi:10.1084/jem.20200652
220. Lefrançois E, Mallavia B, Zhuo H, Calfee CS, Looney MR. Maladaptive role of neutrophil extracellular traps in pathogen-induced lung injury. *JCI Insight*. 2018;3(3):e98178. doi:10.1172/JCI.INSIGHT.98178
221. Al-Kuraishy HM, Al-Gareeb AI, Al-hussaniy HA, Al-Harcen NAH, Alexiou A, Batiha GES. Neutrophil Extracellular Traps (NETs) and Covid-19: A new frontiers for therapeutic modality. *Int Immunopharmacol*. 2022;104:108516. doi:10.1016/J.INTIMP.2021.108516
222. Zhu Y, Chen X, Liu X. NETosis and Neutrophil Extracellular Traps in COVID-19: Immunothrombosis and Beyond. *Front Immunol*. 2022;13:838011. doi:10.3389/FIMMU.2022.838011
223. Cortjens B, van Woensel JBM, Bem RA. Neutrophil Extracellular Traps in Respiratory Disease: guided anti-microbial traps or toxic webs? *Paediatr Respir Rev*. 2017;21:54-61. doi:10.1016/J.PRRV.2016.03.007
224. Zou X, Chen K, Zou J, Han P, Hao J, Han Z. Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. *Front Med*. 2020;14(2):185-192. doi:10.1007/s11684-020-0754-0
225. Blanch-Ruiz MA, Ortega-Luna R, Gómez-García G, Martínez-Cuesta MÁ, Álvarez Á. Role of Neutrophil Extracellular Traps in COVID-19 Progression: An Insight for Effective Treatment. *Biomedicines*. 2021;10(1):31. doi:10.3390/BIOMEDICINES10010031
226. Szturmowicz M, Demkow U. Neutrophil Extracellular Traps (NETs) in Severe SARS-CoV-2 Lung Disease. *Int J Mol Sci*. 2021;22(16):8854. doi:10.3390/IJMS22168854
227. Yadav H, Kor DJ. Platelets in the pathogenesis of acute respiratory distress syndrome. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2015;309(9):L915-L923. doi:10.1152/AJPLUNG.00266.2015
228. Yaqinuddin A, Kvietys P, Kashir J. COVID-19: Role of neutrophil extracellular traps in acute lung injury. *Respir Investig*. 2020;58(5):419-420. doi:10.1016/J.RESINV.2020.06.001

229. Bonaventura A, Vecchié A, Dagna L, et al. Endothelial dysfunction and immuno-thrombosis as key pathogenic mechanisms in COVID-19. *Nat Rev Immunol*. 2021;21(5):319-329. doi:10.1038/s41577-021-00536-9
230. Zhang W, Zhao Y, Zhang F, et al. The use of anti-inflammatory drugs in the treatment of people with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): The experience of clinical immunologists from China. *Clinical Immunology*. 2020;214(March):108393. doi:10.1016/j.clim.2020.108393
231. Motloch LJ, Jirak P, Gareeva D, et al. Cardiovascular Biomarkers for Prediction of in-hospital and 1-Year Post-discharge Mortality in Patients With COVID-19 Pneumonia. *Front Med (Lausanne)*. 2022;9:906665. doi:10.3389/FMED.2022.906665
232. 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
233. Teuwen LA, Geldhof V, Pasut A, Carmeliet P. COVID-19: the vasculature unleashed. *Nat Rev Immunol*. 2020 20:7. 2020;20(7):389-391. doi:10.1038/S41577-020-0343-0
234. Bikdeli B, Madhavan M V., Gupta A, et al. Pharmacological Agents Targeting Thromboinflammation in COVID-19: Review and Implications for Future Research. *Thromb Haemost*. 2020;120(7):1004-1024. doi:10.1055/S-0040-1713152
235. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet*. 2020;395(10234):1417-1418. doi:10.1016/S0140-6736(20)30937-5
236. Lippi G, Favaloro EJ. D-dimer is Associated with Severity of Coronavirus Disease 2019: A Pooled Analysis. *Thromb Haemost*. 2020;120(5):876-877. doi:10.1055/S-0040-1709650
237. Ackermann M, Anders HJ, Bilyy R, et al. Patients with COVID-19: in the dark-NETs of neutrophils. *Cell Death Differ*. 2021;28(11):3125-3139. doi:10.1038/S41418-021-00805-Z
238. Kambas K, Chrysanthopoulou A, Vassilopoulos D, et al. Tissue factor expression in neutrophil extracellular traps and neutrophil derived microparticles in antineutrophil cytoplasmic antibody associated vasculitis may promote thromboinflammation and the thrombophilic state associated with the disease.

- Ann Rheum Dis.* 2014;73(10):1854-1863. doi:10.1136/ANNRHEUMDIS-2013-203430
239. Risitano AM, Mastellos DC, Huber-Lang M, et al. Complement as a target in COVID-19? *Nat Rev Immunol.* 2020;20(6):343-344. doi:10.1038/S41577-020-0320-7
 240. Java A, Apicelli AJ, Kathryn Liszewski M, et al. The complement system in COVID-19: Friend and foe? *JCI Insight.* 2020;5(15):e140711. doi:10.1172/jci.insight.140711
 241. Clark SR, Ma AC, Tavener SA, et al. Platelet TLR4 activates neutrophil extracellular traps to ensnare bacteria in septic blood. *Nat Med.* 2007;13(4):463-469. doi:10.1038/NM1565
 242. Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. *Nat Rev Immunol.* 2018;18(2):134-147. doi:10.1038/NRI.2017.105
 243. Rosell A, Martinod K, Mackman N, Thålin C. Neutrophil extracellular traps and cancer-associated thrombosis. *Thromb Res.* 2022;213 Suppl 1:S35-S41. doi:10.1016/J.THROMRES.2021.12.018
 244. von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) Statement: Guidelines for reporting observational studies. *Prev Med (Baltim).* 2007;45(4):247-251. doi:10.1016/j.ypmed.2007.08.012
 245. Myrstad M, Ihle-Hansen H, Tveita AA, et al. National Early Warning Score 2 (NEWS2) on admission predicts severe disease and in-hospital mortality from Covid-19 - A prospective cohort study. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med.* 2020;28(1):66. doi:10.1186/s13049-020-00764-3
 246. Lip GYH, Nieuwlaat R, Pisters R, et al. Refining clinical risk stratification for predicting stroke and thromboembolism in atrial fibrillation using a novel risk factor-based approach: the euro heart survey on atrial fibrillation. *Chest.* 2010;137(2):263-272. doi:10.1378/CHEST.09-1584
 247. Uresandi F, Monreal M, García-Bragado F, et al. National Consensus on the Diagnosis, Risk Stratification and Treatment of Patients with Pulmonary Embolism. Spanish Society of Pneumology and Thoracic Surgery (SEPAR). Society Española Internal Medicine (SEMI). Spanish Society of Thrombosis and Haemostasis (SETH). Spanish Society of Cardiology (ESC). Spanish Society of Medicine Accident and Emergency (SEMES). Spanish Society of Angiology and

- Surgery Vascular (SEACV). *Arch Bronconeumol*. 2013;49(12):534-547.
doi:10.1016/J.ARBRES.2013.07.008
248. Liu J, Liu Y, Xiang P, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts critical illness patients with 2019 coronavirus disease in the early stage. *J Transl Med*. 2020;18(1):206. doi:10.1186/s12967-020-02374-0
 249. Li G, Fan Y, Lai Y, et al. Coronavirus infections and immune responses. *J Med Virol*. 2020;92(4):424-432. doi:10.1002/jmv.25685
 250. Ragab D, Salah Eldin H, Taeimah M, Khattab R, Salem R. The COVID-19 Cytokine Storm; What We Know So Far. *Front Immunol*. 2020;11:1446. doi:10.3389/fimmu.2020.01446
 251. Fox SE, Akmatbekov A, Harbert JL, Li G, Quincy Brown J, Vander Heide RS. Pulmonary and cardiac pathology in African American patients with COVID-19: an autopsy series from New Orleans. *Lancet Respir Med*. 2020;8(7):681-686. doi:10.1016/S2213-2600(20)30243-5
 252. dos Ramos Almeida CJL, Veras FP, Paiva IM, et al. Neutrophil virucidal activity against SARS-CoV-2 is mediated by NETs. *J Infect Dis*. Published online November 28, 2023. doi:10.1093/INFDIS/JIAD526
 253. 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
 254. Middleton EA, He XY, Denorme F, et al. Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome. *Blood*. 2020;136(10):1169-1179. doi:10.1182/blood.2020007008
 255. Saithong S, Worasilchai N, Saisorn W, et al. Neutrophil Extracellular Traps in Severe SARS-CoV-2 Infection: A Possible Impact of LPS and (1→3)-β-D-glucan in Blood from Gut Translocation. *Cells*. 2022;11(7). doi:10.3390/cells11071103
 256. Prével R, Dupont A, Labrousche-Colomer S, et al. Plasma Markers of Neutrophil Extracellular Trap Are Linked to Survival but Not to Pulmonary Embolism in COVID-19-Related ARDS Patients. *Front Immunol*. 2022;13. doi:10.3389/FIMMU.2022.851497
 257. Henry BM, De Oliveira MHS, Cheruiyot I, et al. Cell-Free DNA, Neutrophil extracellular traps (NETs), and Endothelial Injury in Coronavirus Disease 2019- (COVID-19-) Associated Acute Kidney Injury. *Mediators Inflamm*. 2022;2022. doi:10.1155/2022/9339411

258. Shrivastava S, Chelluboina S, Jedge P, et al. Elevated Levels of Neutrophil Activated Proteins, Alpha-Defensins (DEFA1), Calprotectin (S100A8/A9) and Myeloperoxidase (MPO) Are Associated With Disease Severity in COVID-19 Patients. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021;11. doi:10.3389/fcimb.2021.751232
259. Veras FP, Pontelli MC, Silva CM, et al. SARS-CoV-2-triggered neutrophil extracellular traps mediate COVID-19 pathology. *J Exp Med.* 2020;217(12). doi:10.1084/JEM.20201129
260. Narasaraju T, Yang E, Samy RP, et al. Excessive neutrophils and neutrophil extracellular traps contribute to acute lung injury of influenza pneumonitis. *Am J Pathol.* 2011;179(1):199-210. doi:10.1016/J.AJPAT.2011.03.013
261. Cicco S, Cicco G, Racanelli V, Vacca A. Neutrophil Extracellular Traps (NETs) and Damage-Associated Molecular Patterns (DAMPs): Two Potential Targets for COVID-19 Treatment. *Mediators Inflamm.* 2020;2020. doi:10.1155/2020/7527953
262. Gupta AK, Joshi MB, Philippova M, et al. Activated endothelial cells induce neutrophil extracellular traps and are susceptible to NETosis-mediated cell death. *FEBS Lett.* 2010;584(14):3193-3197. doi:10.1016/J.FEBSLET.2010.06.006
263. Sil P, Wicklum H, Surell C, Rada B. Macrophage-derived IL-1 β enhances monosodium urate crystal-triggered NET formation. *Inflamm Res.* 2017;66(3):227-237. doi:10.1007/S00011-016-1008-0
264. Gupta AK, Hasler P, Holzgreve W, Gebhardt S, Hahn S. Induction of neutrophil extracellular DNA lattices by placental microparticles and IL-8 and their presence in preeclampsia. *Hum Immunol.* 2005;66(11):1146-1154. doi:10.1016/J.HUMIMM.2005.11.003
265. Hosseinnejad A, Ludwig N, Wienkamp AK, et al. DNase I functional microgels for neutrophil extracellular trap disruption. *Biomater Sci.* 2021;10(1):85-99. doi:10.1039/D1BM01591E
266. Lucchesi BR, Werns SW, Fantone JC. The role of the neutrophil and free radicals in ischemic myocardial injury. *J Mol Cell Cardiol.* 1989;21(12):1241-1251. doi:10.1016/0022-2828(89)90670-6
267. Zhang RL, Chopp M, Zhang ZG, et al. E-selectin in focal cerebral ischemia and reperfusion in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1996;16(6):1126-1136. doi:10.1097/00004647-199611000-00006

268. Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell*. 1994;76(2):301-314. doi:10.1016/0092-8674(94)90337-9
269. Hogg N, Berlin C. Structure and function of adhesion receptors in leukocyte trafficking. *Immunol Today*. 1995;16(7):327-330. doi:10.1016/0167-5699(95)80147-2
270. Holmes K, Roberts OL, Thomas AM, Cross MJ. Vascular endothelial growth factor receptor-2: structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition. *Cell Signal*. 2007;19(10):2003-2012. doi:10.1016/J.CELLSIG.2007.05.013
271. Mrowka C, Sieberth HG. Circulating adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1 and E-selectin in systemic vasculitis : marked differences between Wegener's granulomatosis and systemic lupus erythematosus. *Clin Investig*. 1994;72(10):762-768. doi:10.1007/BF00180543
272. Zhang J, Tecson KM, McCullough PA. Endothelial dysfunction contributes to COVID-19-associated vascular inflammation and coagulopathy. *Rev Cardiovasc Med*. 2020;21(3):315-319. doi:10.31083/j.rcm.2020.03.126
273. Imhof BA, Dunon D. Leukocyte migration and adhesion. *Adv Immunol*. 1995;58:345-416. doi:10.1016/S0065-2776(08)60623-9
274. Macías C, Villaescusa R, del Valle L, et al. [Endothelial adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1 and E-selectin in patients with acute coronary syndrome]. *Rev Esp Cardiol*. 2003;56(2):137-144. doi:10.1016/S0300-8932(03)76837-7
275. Oliva A, Rando E, Al Ismail D, et al. Role of Serum E-Selectin as a Biomarker of Infection Severity in Coronavirus Disease 2019. *J Clin Med*. 2021;10(17). doi:10.3390/JCM10174018
276. Sütő R, Pócsi M, Fagyas M, et al. Comparison of Different Vascular Biomarkers for Predicting In-Hospital Mortality in Severe SARS-CoV-2 Infection. *Microorganisms*. 2024;12(1):229. doi:10.3390/MICROORGANISMS12010229
277. Wool GD, Miller JL. The Impact of COVID-19 Disease on Platelets and Coagulation. *Pathobiology*. 2021;88(1):15-27. doi:10.1159/000512007
278. Seo JW, Kim DY, Yun N, Kim DM. Coronavirus Disease 2019-Associated Coagulopathy. *Microorganisms*. 2022;10(8):1556. doi:10.3390/MICROORGANISMS10081556

279. Iba T, Levy JH, Levi M, Connors JM, Thachil J. Coagulopathy of Coronavirus Disease 2019. *Crit Care Med*. 2020;48(9):1358-1364. doi:10.1097/CCM.0000000000004458
280. Zhang S, Liu Y, Wang X, et al. SARS-CoV-2 binds platelet ACE2 to enhance thrombosis in COVID-19. *J Hematol Oncol*. 2020;13(1):120. doi:10.1186/S13045-020-00954-7
281. Yasseen BA, Elkhodiry AA, El-Messierly RM, et al. Platelets' morphology, metabolic profile, exocytosis, and heterotypic aggregation with leukocytes in relation to severity and mortality of COVID-19-patients. *Front Immunol*. 2022;13. doi:10.3389/FIMMU.2022.1022401
282. Blann AD, Nadar SK, Lip GYH. The adhesion molecule P-selectin and cardiovascular disease. *Eur Heart J*. 2003;24(24):2166-2179. doi:10.1016/J.EHJ.2003.08.021
283. Watany MM, Abdou S, Elkolaly R, Elgharbawy N, Hodeib H. Evaluation of admission levels of P, E and L selectins as predictors for thrombosis in hospitalized COVID-19 patients. *Clin Exp Med*. 2022;22(4):567-575. doi:10.1007/S10238-021-00787-9
284. Eisman R, Surrey S, Ramachandran B, Schawartz E, Poncz M. Structural and funtional comparison of the genes for human platelet factor 4 and PF4alt. *Blood*. 1990;76(2):336-344.
285. Cacciola R, Gentilini Cacciola E, Vecchio V, Cacciola E. Cellular and molecular mechanisms in COVID-19 coagulopathy: role of inflammation and endotheliopathy. *J Thromb Thrombolysis*. 2022;53(2):282-290. doi:10.1007/S11239-021-02583-4
286. Ryan FJ, Hope CM, Masavuli MG, et al. Long-term perturbation of the peripheral immune system months after SARS-CoV-2 infection. *BMC Med*. 2022;20(1). doi:10.1186/S12916-021-02228-6
287. Schultz NH, Sørvoll IH, Michelsen AE, et al. Thrombosis and Thrombocytopenia after ChAdOx1 nCoV-19 Vaccination. *N Engl J Med*. 2021;384(22):2124-2130. doi:10.1056/NEJMOA2104882
288. Zaid Y, Puhm F, Allaeyes I, et al. Platelets Can Associate with SARS-Cov-2 RNA and Are Hyperactivated in COVID-19. *Circ Res*. 2020;127(11):1404-1418. doi:10.1161/CIRCRESAHA.120.317703

289. Barale C, Melchionda E, Morotti A, Russo I. Prothrombotic Phenotype in COVID-19: Focus on Platelets. *Int J Mol Sci.* 2021;22(24). doi:10.3390/IJMS222413638
290. Kirsch B, Aziz M, Kumar S, et al. Wells Score to Predict Pulmonary Embolism in Patients with Coronavirus Disease 2019. *Am J Med.* 2021;134(5):688-690. doi:10.1016/J.AMJMED.2020.10.044
291. Caro-Codón J, Lip GYH, Rey JR, et al. Prediction of thromboembolic events and mortality by the CHADS2 and the CHA2DS2-VASc in COVID-19. *Europace.* 2021;23(6):937-947. doi:10.1093/EUROPACE/EUAB015
292. RECOVERY Collaborative Group, Horby P, Lim WS, et al. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19. *N Engl J Med.* 2021;384(8):693-704. doi:10.1056/NEJMOA2021436
293. Marconi VC, Ramanan A V., de Bono S, et al. Efficacy and safety of baricitinib for the treatment of hospitalised adults with COVID-19 (COV-BARRIER): a randomised, double-blind, parallel-group, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet Respir Med.* 2021;9(12):1407-1418. doi:10.1016/S2213-2600(21)00331-3
294. RECOVERY Collaborative Group., Abani O, Abbas A, et al. Tocilizumab in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial. *Lancet.* 2021;397:1637-1645. doi:10.1016/S0140-6736(21)00676-0
295. Wan T, Zhao Y, Fan F, Hu R, Jin X. Dexamethasone Inhibits S. aureus-Induced Neutrophil Extracellular Pathogen-Killing Mechanism, Possibly through Toll-Like Receptor Regulation. *Front Immunol.* 2017;8(FEB). doi:10.3389/FIMMU.2017.00060
296. Zhao X, Zhou L, Kou Y, Kou J. Activated neutrophils in the initiation and progression of COVID-19: hyperinflammation and immunothrombosis in COVID-19. *Am J Transl Res.* 2022;14(3):1454-1468.
297. Li J, Zhang K, Zhang ye, Gu Z, Huang C. Neutrophils in COVID-19: recent insights and advances. *Viol J.* 2023;20(1). doi:10.1186/S12985-023-02116-W
298. Knovich MA, Storey JA, Coffman LG, Torti S V., Torti FM. Ferritin for the clinician. *Blood Rev.* 2009;23(3):95-104. doi:10.1016/J.BLRE.2008.08.001
299. Adam SS, Key NS, Greenberg CS. D-dimer antigen: current concepts and future prospects. *Blood.* 2009;113(13):2878-2887. doi:10.1182/BLOOD-2008-06-165845

300. Tamayo-Velasco Á, Bombín-Canal C, Cebeira MJ, et al. Full Characterization of Thrombotic Events in All Hospitalized COVID-19 Patients in a Spanish Tertiary Hospital during the First 18 Months of the Pandemic. *J Clin Med*. 2022;11(12). doi:10.3390/JCM11123443
301. Ahamed J, Laurence J. Long COVID endotheliopathy: hypothesized mechanisms and potential therapeutic approaches. *J Clin Invest*. 2022;132(15):e161167.
302. Casas-Rojo JM, Antón-Santos JM, Millán-Núñez-Cortés J, et al. Mortality reduction in older COVID-19-patients hospitalized in Spain during the second pandemic wave from the SEMI-COVID-19 Registry. *Sci Rep*. 2023;13(1):17731. doi:10.1038/S41598-023-42735-5
303. Li J, Huang DQ, Zou B, et al. Epidemiology of COVID-19: A systematic review and meta-analysis of clinical characteristics, risk factors, and outcomes. *J Med Virol*. 2021;93(3):1449-1458. doi:10.1002/JMV.26424
304. Cummings MJ, Baldwin MR, Abrams D, et al. Epidemiology, clinical course, and outcomes of critically ill adults with COVID-19 in New York City: a prospective cohort study. *Lancet*. 2020;395(10239):1763-1770. doi:10.1016/S0140-6736(20)31189-2
305. Rubio-Rivas M, Mora-Luján JM, Formiga F, et al. Clusters of inflammation in COVID-19: descriptive analysis and prognosis on more than 15,000 patients from the Spanish SEMI-COVID-19 Registry. *Intern Emerg Med*. 2022;17(4):1115-1127. doi:10.1007/S11739-021-02924-4
306. Kumar A, Arora A, Sharma P, et al. Is diabetes mellitus associated with mortality and severity of COVID-19? A meta-analysis. *Diabetes Metab Syndr*. 2020;14(4):535-545. doi:10.1016/J.DSX.2020.04.044
307. Lima-Martínez MM, Carrera Boada C, Madera-Silva MD, Marín W, Contreras M. COVID-19 and diabetes: A bidirectional relationship. *Clin Investig Arterioscler*. 2021;33(3):151-157. doi:10.1016/J.ARTERI.2020.10.001
308. Miftode E, Miftode L, Coman I, et al. Diabetes Mellitus-A Risk Factor for Unfavourable Outcome in COVID-19 Patients-The Experience of an Infectious Diseases Regional Hospital. *Healthcare (Basel)*. 2021;9(7). doi:10.3390/HEALTHCARE9070788
309. Salinas-Botrán A, Sanz-Cánovas J, Pérez-Somarriba J, et al. Clinical characteristics and risk factors for mortality upon admission in patients with heart failure hospitalized due to COVID-19 in Spain. *Rev Clin Esp*. 2022;222(5):255-265. doi:10.1016/J.RCENG.2021.06.004

310. Ilg A, Moskowitz A, Konanki V, et al. Performance of the CURB-65 Score in Predicting Critical Care Interventions in Patients Admitted With Community-Acquired Pneumonia. *Ann Emerg Med.* 2019;74(1):60-68. doi:10.1016/J.ANNEMERGMed.2018.06.017
311. Brito V, Niederman MS. How does one diagnose and manage severe community-acquired pneumonia? In: Deutschman CS, Neligan PJ, eds. *Evidence-Based Practice of Clinical Care.* Elsevier; 2011:253-262.
312. Anurag A, Preetam M. Validation of PSI/PORT, CURB-65 and SCAP scoring system in COVID-19 pneumonia for prediction of disease severity and 14-day mortality. *Clin Respir J.* 2021;15(5):467-471. doi:10.1111/CRJ.13326
313. Sepulveda JL. Challenges in Routine Clinical Chemistry Analysis Proteins and Enzymes. In: Dasgupta A, Sepulveda JL, eds. *Accurate Results in the Clinical Laboratory.* Elsevier; 2013:131-148.
314. Xu C bin, Su S shan, Yu J, et al. Risk factors and predicting nomogram for the clinical deterioration of non-severe community-acquired pneumonia. *BMC Pulm Med.* 2024;24(1). doi:10.1186/S12890-023-02813-W
315. Wu MY, Yao L, Wang Y, et al. Clinical evaluation of potential usefulness of serum lactate dehydrogenase (LDH) in 2019 novel coronavirus (COVID-19) pneumonia. *Respir Res.* 2020;21(1). doi:10.1186/S12931-020-01427-8
316. Ng H, Havervall S, Rosell A, et al. Circulating Markers of Neutrophil Extracellular Traps Are of Prognostic Value in Patients With COVID-19. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2021;41(2):988-994. doi:10.1161/ATVBAHA.120.315267
317. Fernández-Pérez MP, Águila S, Reguilón-Gallego L, et al. Neutrophil extracellular traps and von Willebrand factor are allies that negatively influence COVID-19 outcomes. *Clin Transl Med.* 2021;11(1):e268. doi:10.1002/CTM2.268
318. de Diego C, Laserra AB, López-Vergara L, et al. What is the actual relationship between neutrophil extracellular traps and COVID-19 severity? A longitudinal study. *Respir Res.* 2024;25(1):48. doi:10.1186/S12931-023-02650-9

11.- ANEXOS

ANEXO 1. Protocolo de tratamiento aprobado en el Hospital Puerta del Mar de Cádiz

ANEXO 2. Aprobación del Proyecto de Investigación por el CEI de Cádiz

PROTOCOLO DE TRATAMIENTO PARA PACIENTES CON INFECCION POR SARS CoV-2 del H.U. PUERTA DEL MAR. CÁDIZ (VERSION DICIEMBRE-21)

COLABORADORES:

Unidad de Gestión Clínica de Medicina Interna

Unidad de Gestión clínica de Endocrinología y Nutrición

Unidad de Gestión clínica de Microbiología

ORGANIZACIÓN DEL PROTOCOLO

1. CONSIDERACIONES GENERALES

2. ATENCION EN URGENCIAS

3. ATENCION AL PACIENTE HOSPITALIZADO

- ESTUDIOS COMPLEMENTARIOS A SOLICITAR
- ESTRATIFICACION DEL RIESGO
- FACTORES DE RIESGO PARA ENFERMEDAD GRAVE
- ASPECTOS DE LA ENFERMEDAD A TENER EN CUENTA
- MANEJO DEL PACIENTE HOSPITALIZADO
 - TRATAMIENTO DE LA NEUMONIA LEVE
 - TRATAMIENTO DE LA NEUMONIA MODERADA-SEVERA
 - TRATAMIENTO DE LA MUJER EMBARAZADA
 - CRITERIOS DE INGRESO EN UCI
 - TRATAMIENTOS A TODOS LOS PACIENTES
 - CONSIDERACIONES AL ALTA

4. FARMACOS

5. ANEXOS

6. BIBLIOGRAFÍA

1. CONSIDERACIONES GENERALES

El tratamiento de las enfermedades debe basarse en los resultados de ensayos clínicos aleatorizados. En el caso de COVID-19, el número de fármacos disponibles basados en estos ensayos es cada vez mayor.

Sin embargo, el uso clínico y los protocolos aplicados en diferentes hospitales complementan los anteriores con otros fármacos. Algunos de estos tratamientos son moléculas de nuevo desarrollo y otras son usos nuevos de medicamentos ya autorizados en otras indicaciones. De todo ello se genera constantemente una gran cantidad de información que va siendo analizada conforme está disponible. De ahí que este documento esté sometido a actualizaciones a medida que se disponga de mejores evidencias científicas, según la evolución de la epidemia y según la evolución de los stocks de medicamentos disponibles.

La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) indica en concreto que “Aunque existen ensayos clínicos en marcha en España y en el resto del mundo, no existe por el momento evidencia procedente de ensayos clínicos controlados que permitan recomendar un tratamiento específico para SARS-CoV-2. La información general recogida de los distintos medicamentos es orientativa. Se recomienda de forma prioritaria la utilización de estos medicamentos a través de estudios clínicos aleatorizados que permitan generar conocimiento. El uso fuera del contexto de ensayo clínico, se recomienda que se realice siguiendo los protocolos de manejo clínico de cada hospital” (<https://www.aemps.gob.es/la-aemps/ultima-informacion-de-la-aemps-acerca-del-covid%e2%80%9119/tratamientos-disponibles-para-el-manejo-de-la-infeccion-respiratoria-por-sars-cov-2/>)

Estrategias terapéuticas POTENCIALES indicadas por la AEMPS incluyen el uso aislado o combinado de los siguientes: Remdesivir, Lopinavir/ritonavir, Hidroxicloroquina/Cloroquina, Tocilizumab, Sarilumab, Ruxolitinib, Siltuximab, Baricitinib, Anakinra, Interferón beta1 e Interferon alfa2.

Siguiendo las anteriores recomendaciones, el presente documento es un protocolo que se somete a la consideración de la Dirección del Hospital Universitario Puerta del Mar o de las Comisiones Delegadas que se consideren, tras su discusión y acuerdo en el seno de la UGC Medicina Interna/Enfermedades Infecciosas/Cuidados Paliativos del mismo. Cuenta con la colaboración de otras UGCs del mismo Hospital en apartados específicos (Neumología y Endocrinología).

2. ATENCION EN URGENCIAS

Caso posible o confirmado, < 60 años sin comorbilidades¹	PCR COVID ² O TEST DE AG ³ (primeros 5 días de Síntomas)	– Domicilio – Vigilancia MAP	– Si PCR POSITIVA y VACUNADO o no VACUNADO: • Tratamiento Sintomático • CLEXANE: Individualizar	-Seguimiento Telefónico -Si síntomas de alarma ⁴ : Re-evaluación en Urgencias -Aislamiento domiciliario para los Vacunados y No Vacunados										
Caso posible, > 60 años y/o comorbilidades con buen control Sat O2 > 95% basal o (SpFiO2 > 450) EQUIVALENCIAS: <table><tr><th>SatO2 (%)</th><th>PaO2 (mmHg)</th></tr><tr><td>> 97</td><td>100</td></tr><tr><td>96</td><td>90</td></tr><tr><td>95</td><td>80</td></tr><tr><td>92</td><td>70</td></tr></table>	SatO2 (%)	PaO2 (mmHg)	> 97	100	96	90	95	80	92	70	-Hacer PCR COVID (múltiple) -No taquipnea ni crepitantes -Rx Tórax: NO INFILTRADO	– Domicilio – Vigilancia MAP	Si PCR POSITIVA: – TRATAMIENTO SINTOMATICO – SI NO HAY CONTRAINDICACION: *Ac Monoclonales⁵ o antivirales disponibles *Profilaxis antitrombótica con HBPM CLEXANE 40 mg cada 24 h sc – RETIRAR METFORMINA e ISGLT2	-Régimen ambulatorio -Si síntomas de alarma→ Re-evaluación en Urgencias y valorar Ingreso -Aislamiento domiciliario
SatO2 (%)	PaO2 (mmHg)													
> 97	100													
96	90													
95	80													
92	70													
– Caso posible⁶ o confirmado con NEUMONIA y/o HIPOXEMIA (Sat O2 basal < 95% o SpFi O2 < 450) y/o taquipnea >20 – Caso posible, >65 años y/o comorbilidades asociadas con mal control – - Pacientes COVID positivos en domicilio con deterioro clínico			INGRESO HOSPITALARIO											

¹ comorbilidades: Inmunodeprimidos (VIH < 500/mm³ CD4), cardiopatías, hipertensión arterial, patología respiratoria crónica, enfermedad renal crónica, diabetes mellitus, obesidad moderada o severa (tipo II y

III), neoplasias, hepatopatía crónica.² la PCR COVID realizada en Urgencias. PCR MULTIPLE: PCR SARS CoV2, Influenza A y B y VRS.³ ver recomendaciones actualizadas en la web hospitalaria

⁴ Síntomas de Alarma: Fiebre persistente, Mal estado general, Disnea, Taquipnea, Empeoramiento progresivo

⁵ Los pacientes vacunados que sean candidatos a recibir Ac Monoclonales deben de disponer de una serología frente al SARS CoV-2 para ver antes niveles de Ac neutralizantes. En caso de tener niveles de Ac neutralizantes elevados el uso de Ac monoclonales es controvertido

⁶ Si el resultado de la PCR COVID es NEGATIVO y el paciente es candidato a ingreso, se ingresará en Área de investigación y se repetirá la PCR COVID en 24 horas (preferible en muestra de esputo)

3. PACIENTES INGRESADOS

RECOMENDACIONES

Los casos que requieran INGRESO HOSPITALARIO, SERAN AISLADOS DURANTE SU ESTANCIA EN EL HOSPITAL siguiendo las precauciones estándar, de contacto y precauciones de transmisión por gotas y serán manejados según los protocolos establecidos (ver web hospitalaria)

ESTUDIOS COMPLEMENTARIOS A SOLICITAR EN EL MOMENTO DEL INGRESO

A TODOS LOS PACIENTES SE LES SOLICITARÁ: **Analítica de urgencias** de **Perfil COVID (urgente)**.

El perfil COVID-URGENTE incluye:

- Hemograma: Leucocitos-linfocitos
- Coagulación, incluyendo Dímeros D
- Bioquímica completa con CPK, troponina y PCR
- PCT: si elevada, sospecha de sobreinfección bacteriana
- Ferritina
- Gasometría venosa
- Ácido láctico

El perfil COVID- RUTINA incluye:

Solicitar al día siguiente del ingreso

- Serología VHB-VHC-VIH y SARS CoV-2 en pacientes vacunados
- Inmunoglobulinas G, A y M
- Proteinograma
- Ferritina
- Triglicéridos
- Vitamina D
- Grupo sanguíneo

- Rx Tórax portátil
- Electrocardiograma (ECG)
- GSA en determinadas situaciones

PETICIONES MICROBIOLÓGICAS:

- PCR COVID
- Si Influenza + en PCR MULTIPLE de Urgencias, solicitar Gripe A y B y VRS
- SEGÚN PRESENTACION CLINICA Y RESULTADO DE LO ANTERIOR se podrá solicitar según juicio clínico de su médico:
 - Ag neumococo, Legionella en orina
 - Cultivo de esputo
 - FILMARRAY panel respiratorio (esputo/nasofaríngeo): investiga virus y atípicas
 - Inmunodeprimidos: *Pneumocystis* en esputo
 - Hemocultivos X 2 si FIEBRE
 - QUANTIFERON previo al tratamiento Biológico (El test de Mantoux podría modificarse con los esteroides). -Si sale positivo: tratar INH a dosis profilácticas si se descarta enfermedad)

ESTRATIFICACION de RIESGO:

- SOLICITAR PERFIL COVID URGENTE AL INGRESO y PERFIL COVID RUTINA PARA EL DIA SIGUIENTE
- Perfil COVID urgente cada 2-3 días
- En los casos en los que se vaya a emplear TOCILIZUMAB solicitar interleucina 6 previo a tratamiento
- RX Tórax de control según la evolución

A VALORAR:

- SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS,
- Test de Coombs, reticulocitos y haptoglobina en caso de sospecha de anemia hemolítica microangiopática (MAT)
- FIBROBRONCOSCOPIA CON PANEL de neumonía plus tracto inferior (virus, atípicas y bacterias), para algunos casos con alta sospecha con PCR COVID negativa, o para sospecha de sobreinfección respiratoria
- TAC TORAX HELICOIDAL/TACAR: En caso de sospecha de tromboembolismo pulmonar o enfermedad intersticial, así como para establecer extensión y/o complicaciones
- ECOCARDIO TT y ECO de MMII
- ECO TORACICA (evolución)

FACTORES DE RIESGO PARA ENF GRAVE

Epidemiológicos	Signos clínicos	Laboratorio
> 65 años	FR > 24 rpm	Dímeros D > 1000 ng/mL
Hipertensión arterial	FC > 125 lpm	CPK > 2 veces valor basal
Obesidad	SpFi < 430	PCR > 100 mg/L
Enfermedad pulmonar previa		LDH > 500 U/L
Insuficiencia renal crónica moderada-severa		Troponina elevada
Diabetes mellitus con HbA1c > 7,6%		Ferritina > 1000 ng/L
Enfermedad cardiovascular		Linfopenia < 500/mm ³
Trasplantado u otra inmunodepresión		
VIH con valores de CD4 < 500/mm ³		

ESCALAS DE GRAVEDAD:

1.-NEWS 2: NATIONAL EARLY WARNING SCORE 2 (NEWS2) ^{(1) (2)}

El NEWS2 es una escala de alerta pronóstica precoz, pero debe usarse como complemento al juicio del médico.

En el artículo de Mystard et al. la puntuación NEWS2 al ingreso hospitalario predijo pacientes con enfermedad grave y mortalidad hospitalaria y fue superior a otras escalas empleadas hasta el momento en estos pacientes.

Se aconseja realizarla en el momento del ingreso y a los 7 días.

Página WEB para hacer escala pronostica: <https://www.mdcalc.com/national-early-warning-score-news-2>

Escala Nacional de Advertencia Temprana, NEWS							
Variables	Escala NEWS						
	3	2	1	0	1	2	3
Frecuencia respiratoria por minuto	≤8		9-11	12-20		21-24	≥25
SpO2 (%)	≤91	92-93	94-95	≥96			
Uso de oxígeno suplementario		Sí		No			
Presión arterial sistémica (mmHg)	≤90	89-100	101-110	111-129			≥220
Pulso por minuto	≤40		41-50	51-90	91-110	111-130	≥131
Estado de conciencia				alerta			Responde a la voz, dolor o no responde
Temperatura (C)	≤35		35.1-36	36.1-38	38.1-39	≥39.1	

INTERPRETACION SEGÚN PUNTUACIÓN

- **0: BAJO RIESGO. MONITORIZACION CADA 12 HORAS**
- **1-4: BAJO RIESGO (CODIGO AMARILLO). MONITORIZACION CADA 4-6 HORAS**
- **5-6 o 3 EN ALGUN ITEM: RIESGO MODERADO (CODIGO NARANJA): MONITORIZACION CADA 2 HORAS. VIGILAR ESTRECHAMENTE POR SI PRECISA COMENTAR CON UCI**
- **MAYOR o IGUAL a 7: RIESGO ALTO (CODIGO ROJO). MONITORIZACION CONTINUA. CUIDADOS EN UCI**
- **MAYOR o IGUAL a 7: RIESGO ALTO (CODIGO NEGRO). MONITORIZACION CONTINUA. UCI (ENFERMEDAD SEVERA E IRREVERSIBLE)**

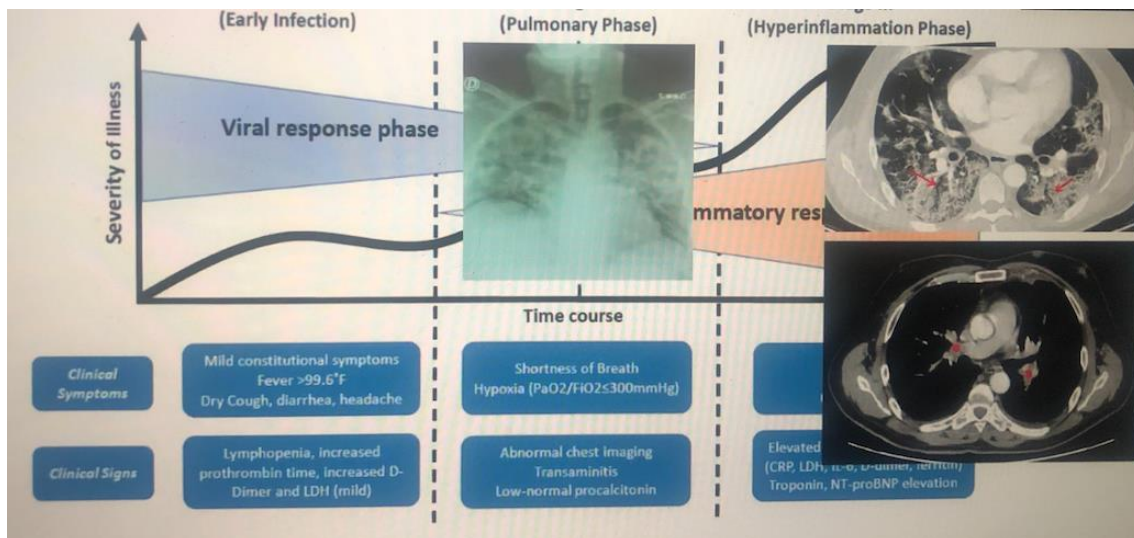
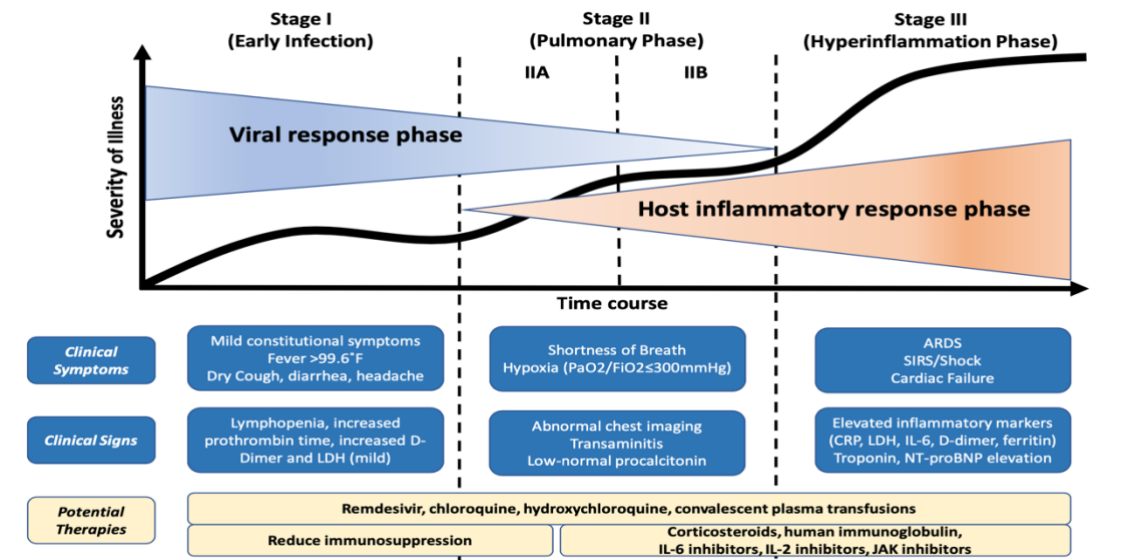
2.-CALL SCORE

- Comorbidity, Age, Lymphocyte, LDH
- Abarca una horquilla de 4 a 13 puntos (comorbilidad 1-4, edad 1-3, linfos 1-3, LDH 1-3), clasificándose en 3 niveles de riesgo de acuerdo con sus probabilidades de progresión de la neumonía COVID19.
 - Puntuaciones de 4-6 → **Clase A** → Bajo riesgo → probabilidad de progresión < 10%.
 - De 7-9 puntos → **Clase B** → riesgo intermedio → probabilidad de progresión del 10-40%.
 - De 10-13 puntos → **Clase C** → Alto riesgo → probabilidad de progresión > 50%
- <https://www.rccc.eu/COVID/CALL.html>

ASPECTOS DE LA ENFERMEDAD A TENER EN CUENTA A LA HORA DEL TRATAMIENTO:

Enfermedad POLIFASICA ⁽⁴⁾

PRIMERA FASE: VIRAL	INFECCION VIRAL y ACTIVACION DE INMUNIDAD INNATA (TLR 3,7,8; NLRP3; RLR) RESPUESTA ANTIVIRAL; Producción de interferon (INF tipo I, II y Lambda): 1-7 días tras el inicio de los síntomas. Desde asintomáticos a síntomas LEVES-MODERADOS
SEGUNDA FASE: PULMONAR	NEUMONIA: DIFERENTES GRADOS DE SEVERIDAD. LINFOPENIA Evasión del SARS CoV-2 de la acción del interferón tipo I (producción de Ac??) Inmunosenescencia. Producción de TNF alfa, IL-6. Agotamiento de células T= linfopenia (IL-6. Producción de citocinas Inhibitorias (PD-1, Tim-3) Alteración del aclaramiento viral Clínicamente manifiesta como NEUMONIA. Un 15% NEUMONIA GRAVE
TERCERA FASE: HIPERINFLAMACION	Pasados 8 DIAS, las cargas virales no son tan altas. Existe estado de hiperinflamacion y se comienzan a producir anticuerpos NEUMONIA GRAVE: 9-10 días tras el inicio de los síntomas Invasión TISULAR por MONOCITOS/MACROFAGOS. Fagocitosis y TORMENTA DE CITOCINAS Macrófagos activados, Hemofagocitosis, Afectación intersticial/Infiltrados alveolares (SDRA), Microangiopatía trombotica (MAT, COAGULOPATIA) Aumento de IL-1beta, IL-18 (activa células NK), INF gamma (producidas por las células T y NK), e IL-6 DAÑO ALVEOLAR DIFUSO (DAD), OP: ORGANIZING PNEUMONIA, ACUTE FIBRINOUS AND ORGANIZING PNEUMONIA (AFOP) NON-RESOLVING PNEUMONITIS: No resolución de los infiltrados pulmonares tras 14 días de síntomas COMPLICACIONES: FIBROSIS PULMONAR, ETE crónica (CTED), Hipertensión pulmonar tromboembólica crónica (CTEPH)
	SINDROME DE ACTIVACION MACROFAGICA/TORMENTA CITOCINA ⁽⁵⁾ Valoración el deterioro de la oxigenación, la progresión radiológica y los parámetros analíticos de inflamación sistémica/activación macrofágica. Estos parámetros son: - DD > 1000 ng/mL - Linfopenia < 500 cél/μL - Ferritina > 1000 ng/ml - LDH > 500 U/L - PCR > 100 mg/L - IL-6 > 15 pg/mL



81% SINTOMAS LEVES-MODERADOS

NEUMONIA en diferentes grados.
GRAVE (15%)

DAÑO PULMONAR AGUDO exudativo

DAÑO ALVEOLAR DIFUSO proliferativo

NEUMONIA ORGANIZADA

ENFERMEDAD TROMBOEMBOLICA

MANEJO DEL PACIENTE HOSPITALIZADO

NEUMONIA LEVE

- taquipnea 21-24 y/o crepitantes a la auscultación
- Saturación basal > o igual a 95% (Hipoxemia). No suelen precisar O2 o si lo precisan es a bajos flujos
- PaFiO2 300- 400

ANALITICA DE MAL PRONOSTICO:

Linfos < 800 cel/microl, troponina I elevada, DD > 3000 ng/mL, Ferritina > 3000 ng/mL, LDH > 300 U/mL

SI ESTAMOS EN LOS PRIMEROS 8 DÍAS DE EVOLUCION DE LOS SINTOMAS: FASE VIRAL

- **ANTOVIRALES DISPONIBLES: REMDESIVIR iv/oral** ^{8,9} **PLITIDEPSIN iv**: Remdesivir para aquellos pacientes que estén en los primeros 7 días de evolución de los síntomas (1-7 días) y tengan factores de riesgo de progresión. Requiera O2 a bajos flujos (requisitos de la AEMPS: ver abajo). Plitidepsin: Ensayo Clínico
- **AC MONOCLONALES DISPONIBLES....** Pendiente de ver con Farmacia
- **TRATAMIENTO ESTEROIDEO** ^{5,6,7}: **NO INDICADO DE MANERA AISLADA**. Se deben asociar a antivirales o IGIV
- **CALCIFEDIOL** ^{10,11} si déficit de vitamina D:
< 20 ng/ml: 1 ampolla cada 48 h la primera semana y posteriormente semanal
>20: ng/ml: 1 ampolla semanal, al menos 2 semanas
- **PLASMA HIPERINMUNE** ¹² (Ensayo Clínico): Poca Eficacia
Candidatos: pacientes menores de 65 años con SatO2 menores de 94% o mayores de 65 años con cualquier saturación O2. Primeros 7 días. Si tiene contraindicación o no esta disponible se puede ensayar con Gammaglobulinas iv
- Si PCT > 2 o cuadro compatible con neumonía bacteriana: AÑADIMOS ANTIBIÓTICO para NAC comunitaria.

SI ESTAMOS EN LA SEGUNDA SEMANA DE EVOLUCION DE LOS SINTOMAS + 8 DÍAS

- CONSIDERAR que los pacientes ID, con IS, Obesidad, Neoplasias tienen aclaramiento viral mas lento
- **DEXAMETASONA** 6 mg/día/ 10 días (PAUTA RECOVERY) o DXM 20 mg al dia 3 días o equivalente en MP: 125 mg de **METILPREDNISOLONA**/día/ 3 días. TRAS LOS BOLOS SE PUEDE DEJAR PREDNISONA 15-20 mg/DIA EN PAUTA DESCENDENTE (5 mg cada 7-10 días) y **SUSPENDER!!** y **CALCIFEDIOL** IGUAL al punto anterior.
- **Si el paciente tiene Factores de Riesgo para progresión, y no podemos usar antiviral y no ha desarrollado de Ac Neutralizantes** o están en niveles muy bajos, se puede ensayar ciclo de **GAMMAGLOBULINAS IV** a razón de 0,4 g /Kg/día durante 4-5 días ^{13,14} sobre todo si estamos en día + 8-11 de evolución

VIGILAR 48 h y si mala evolución pasar al punto siguiente.

Son marcadores de **mala evolución clínica**

	– Fiebre alta mantenida, – Taquipnea > 21 rpm, – SatO2 < 93%, – Trabajo respiratorio – ANALITICA: linfopenia progresiva, ascenso de LDH, PCR, DD o ferritina; elevación de la IL-6 - Progresión radiológica rápida (24-48 horas).
NEUMONIA MODERADA/GRAVE ENFERMEDAD MODERADA¹: SAT O2 > o Igual 94%. Infiltrados pulmonares uni o BILATERALES < 50%. FR < 24 NEWS 2: 5-6, CALL score B ENFERMEDAD GRAVE o SEVERA²: SAT O2 < 94%. Infiltrados pulmonares BILATERALES > 50% FR > 24 NEWS 2: 7, CALL-score C ENFERMEDAD CRITICA Fallo Respiratorio, Shock, FMO INGRESO EN UCI O MALA o TORPIDA EVOLUCION DE NEUMONIA LEVE O SDRA (BERLIN): infiltrados pulmonares bilaterales + Deficit de oxigenacion LEVE: PaO2/FiO2 < 300 (SpFi 315).: E. Shunt 20% MOD: Pa/Fi < /= 200 (SpFi 235): E. Shunt 33%. UCI GRAVE: Pa/Fi < /= 166 mmHg (SpFiO2 148). E. Sunt 50%. UCI (Si PaO2 No disponible SatO2/FiO2 o SpFi)	NORMALMENTE SON PACIENTES QUE ESTAN EN DIA + 10 DE EVOLUCION DE LA INFECCION: FASE INFLAMATORIA -ESTEROIDES: -DEXAMETASONA 7,2 mg IV o VO para casos MODERADOS (7-10 días pauta descendente) -BOLUS 125-250 mg en 1 h iv x 3 días: CASOS GRAVES Y CRITICOS (continuar con 30-20 mg prednisona oral pauta descendente) AÑADIR INMUNOSUPRESORES: -BARICITINIB: casos MODERADOS, 4 mg/ día vo (2 mg/ día si FG < 60 o > 70 años) 7-10 días. Tb se puede usar en Monoterapia a partir de día +7 de evolución de los síntomas -TOCILIZUMAB casos GRAVES O SEVEROS TCZ 400 y 600 mg (según peso) iv en 60 min, en caso de Gravedad o Enf. Severa. • No ajuste si FG > 30, FG<30: se desconoce • CI si diverticulitis complicada * Si no hubiese TCZ disponible, se prefiere ANAKINRA + BARICITINIB de inicio en pacientes GRAVES. También valoramos ANAKINRA si los niveles de IL 6 < 40 y/o FERRITNA son ELAVDOS (>2000) o no se produce RESPUESTA con el TCZ. * Se puede valorar RUXOLITINIB en lugar de BARICITINIB, sobre todo en pacientes con FG < 30 ml/min (NO COMBINAR AMBAS MOLECULAS) (su uso ha demostrado eficacia en pacientes con Linfocitosis Hemofagocítica) * Valorar evolución del DIMERO D a las 48 H a la hora de intensificar el tratamiento anticoagulante - INMUNOGLOBULINAS, si infección concomitante que obligue a suspender biológicos o situaciones de inmunosupresión

PARA VALORAR LA EFICACIA DEL TRATAMIENTO ESPERAR UNAS 48-72 H TTO SECUENCIAL	
ACUTE FIBRINOUS AND ORGANIZING PNEUMONIA (AFOP)	TRAS 14 DIAS DE SINTOMAS: PERSISTENCIA DE LOS MARCADORES INFLAMATORIOS (FERRITINA Y DD) Y PERSISTENCIA O EMPEORAMIENTO DE LOS INFILTRADOS • DESCARTAR SOBREINFECCION BACTERIANA (TACAR,FIBROBRONCOSCOPIA) o TEP (ANGIOTAC) • MÍNIMA dosis de esteroides posible y el MENOR tiempo posible. ES fundamental para PREVENIR SOBREINFECCIONES. Normalmente 20-30 mg de prednisona en pauta descendente (5 mg cada 7-10 días) A Valorar en función de los hallazgos radiológicos y la clínica del paciente • SI HAN PASADO MAS DE 20 DIAS CON TRATAMIENTO ESTEROIDEO, AÑADIR PROFILAXIS CON SEPTRIM FORTE CADA 48H • SI LINFOPENIA < 800 Y/O CRITERIOS DE SEPSIS, VALORAR CICLO DE INMUNOGLOBULINAS IV • VALORAR AÑADIR AHORRADOR DE ESTEROIDES: CCLOSPORINA A (comentar con personal experimentado) • FISIOTERAPIA RESPIRATORIA: INCENTIVADOR • PAPEL DE LA ECO TORACICA EN EL SEGUIMIENTO
PARA TODOS LOS PACIENTES	COINFECCION o SOBREINFECCION: -PCT > 2 ng/ml + Leucos > 12.000. Infiltrado alveolar único o clínica de otro foco • A tener en cuenta: CMV (Pedir C viral de CMV), Aspergillus (Galactomano), Bacterias Nosocomiales (estancia en UCI) en la sobreinfección. • En pacientes con sobreinfeccion bacteriana grave, considerar INMUNOGLOBULINAS inicialmente (contraindicación relativa para tratamiento biológico)

- **TRATAMIENTO ANTIBIOTICO** SEGÚN GUIAS Y PROTOCOLO DEL HOSPITAL

COAGULOPATIA^{27,28}

- Todos los pacientes que requieran ingreso hospitalario, si no hay contraindicación, recibirán profilaxis antitrombótica con **HBPM**
- Elevación progresiva de DD: si > 3000 (riesgo de TEP: 10%):
CLEXANE 1 mg/Kg/día.
- Si elevación progresiva DD, a pesar de HEPARINA en profilaxis, +/- fibrinógeno, **valorar anticoagulación.**
- Si evidencia de trombosis, **CLEXANE 1 mg/kg/12h**
- Si plaquetas en descenso o tiempo de protrombina disminuyendo, **valorar CID**

CONSIDERACIONES GENERALES:

- MASCARILLA QUIRÚRGICA PARA TODOS LOS PACIENTES
- PARACETAMOL o METAMIZOL como tratamiento del dolor y/o antipirético. SE PUEDEN USAR AINEs SI SE ESTIMA OPORTUNO
- NO SE RETIRARÁN LOS IECA/ARA DEL TRATAMIENTO DEL PACIENTE SI LO PRECISA PARA CONTROL DE LA TENSIÓN ARTERIAL 30,31
- A los pacientes DIABETICOS con enfermedad grave se le recomienda suspender los ADO Y USAR INSULINA
- PROFLAXIS ANTITROMBOTICA (vigilar cifra de plaquetas y Ajustar a función renal)

ENOXA u otra HBPM 40 mg sc/ día si peso < 80 kg

60 mg sc /día si 80-100 kg

80 mg sc/ día si >100 Kg

- SI TROMBOSIS: CLEXANE 1 mg/Kg cada 12 h sc

Se modificará el tratamiento de los pacientes anticoagulados con SINTROM o WARFARINA o ACOD, pasando a HBPM a dosis terapéuticas

Valorar añadir AAS ante presencia de factores de riesgo cardiovascular

- Los patrones de confección y coagulopatía pueden coexistir o no
- Valorar REPETIR bolos de esteroides según las necesidades y siguiendo la pauta expuesta más arriba
- Recomendar, en la medida de lo posible, la PRONACION en situaciones de compromiso respiratorio leves-moderado.
- SOPORTE RESPIRATORIO. Usar GN o gafas nasales tipo AVISPA. NO VM. Se podrá usar VMNI en habitaciones con presión negativa (ver

- Entregar documento de las medidas a adoptar en domicilio
- Se contactará telefónicamente con el paciente para el seguimiento si es necesario
- HBPM si existen factores de riesgo, 7-14 días
- Valoración de donación de plasma
- INFECCION RESUELTA: Persona asintomática con serología Ig G POSITIVA (que no haya recibido plasma hiperinmune) independientemente del resultado de la PCR (positiva, negativa o no realizada)
- LOS CASOS que VUELVAN a presentar sintomatología y PCR POSITIVA tras HABER PASADO una infección CON RESOLUCION CLINICA serán estudiados por el Centro Nacional de Microbiología para poder determinar si presentan una nueva infección
- CONSULTA NEUMO-COVID TRAS EL ALTA HOSPITALARIA: importante de cara a las secuelas,
Entre el 25-50% de los pacientes con COVID grave pueden tener secuelas pulmonares
Hasta un 70% de pacientes persisten con síntomas de Fatiga y Disnea a los 2 meses tras el alta
Complicaciones vasculares: CTED, CTEPH

4. FÁRMACOS

CONSULTAR SIEMPRE INTERACCIONES en: www.covid19-druginteractions.org

ESTEROIDES: DEXAMETASONA (DX) o equivalente en METILPREDNISOLONA (MP): LOS CORTICOIDES HAN DEMOSTRADO DISMINUIR LA MORTALIDAD

JUSTIFICACION: Los esteroides podrían controlar la respuesta inflamatoria sistémica provocada por el SARS-CoV2. Sin embargo, si se prologa su administración en el tiempo puede conducir a un aclaramiento viral tardío y mayor riesgo de infección secundaria. Según la AEMPS, el uso de corticoides debe valorarse de manera individualizada. Parece existir evidencia de su uso a dosis elevadas (MP 1-2 mg/Kg/día 3-5 días) en pacientes graves: distrés respiratorio agudo, shock séptico, encefalitis, síndrome hemofagocítico.

INDICADO para pacientes con distress y en fase inflamatoria

BIBLIOGRAFIA:

- Estudio RECOVERY ⁵. Ensayo controlado y abierto, beneficios de la DXM en pacientes hospitalizados con COVID 19 que precisan de asistencia respiratoria (ventilación mecánica o sólo oxígeno, pero no en los que no reciben soporte respiratorio). Dosis: DXM 6 mg/día durante 10 días.
- Callejas Rubio JL et al ⁶: estudio observacional retrospectivo en pacientes con síndrome de liberación de citocinas (SLC); y Ruiz de Irastorza G et al ⁷, estudio observacional retrospectivo en COVID graves con neumonía a partir de la segunda semana, apoyan el uso de bolus de esteroides (125 mg o 250 mg), sin descenso progresivo,

POSOLOGIA: 6-20 mg de DM/día (o su equivalente de MP 125 mg/día) durante 3 días, para neumonías leves; y DXM 40 mg (o su equivalente en MP 250 mg) para infiltrado extenso o insuficiencia respiratoria., Se pueden repetir los bolos de MP/DXM

RECOMENDACIONES: Perfusión intravenosa; se recomienda diluir en 100 cc de SSF y pasar en al menos 30 minutos

PRECAUCIONES: vigilar hipertensión arterial, hiperglucemia y manía corticoidea. La DMX atraviesa la placenta

CONTRAINDICADO: Sepsis bacteriana grave no controlada/no tratada; insuficiencia cardiaca III/IV NYHA.

REMDESIVIR (GS-5734):

Pro-fármaco, Análogo nucleotídico que interfiere con la polimerización del ARN polimerasa del virus. Aprobado por la Agencia Europea del Medicamento (EMA). Se desarrolló como parte del tratamiento para el Ebola. Efectivo para SARS CoV y MERS CoV

JUSTIFICACION: Fármaco con presumible acción antiviral

INDICACIÓN: La EMA autoriza el tratamiento para adolescentes y adultos con SARS-Cov2 con neumonía que requieran O2 suplementario. La AEMPS recomienda priorizar el uso de Remdesivir para tratamientos en adolescentes mayores de 12 años y adultos con peso mayor de 40 Kg, con COVID-19 hospitalizados con neumonía y que requieran O2 suplementario, pero NO que precisen oxigenoterapia de alto flujo,

ventilación no invasiva, ventilación mecánica o ECMO, con una duración máxima de 5 días y que cumplan los siguientes criterios:

- Saturación basal $\leq 94\%$
- MENOS de 10 días desde el comienzo de los síntomas (No de la PCR positiva)
- Aclaramiento de creatinina > 50 ml/min
- AST/ALT < 5 veces el límite superior
- No historia de Child-Pugh C

BIBLIOGRAFIA

- WANG Y et al ⁸. Ensayo aleatorizado doble ciego y controlado con placebo, multicéntrico. Incluyeron a pacientes de con 12 días de evolución o menos desde el inicio de los síntomas, con $\text{SatO}_2 \leq 94\%$ o PaFi 300 mmHg o menos y neumonía confirmada. No se demostró que Remdesivir aclarara el virus más rápidamente que el placebo. El beneficio de remdesivir no se asoció a beneficios clínicos estadísticamente significativos, pero sí a un tiempo de recuperación más rápido (15 vs 11 días), sobre todo los que presentaban una duración de los síntomas de 10 días o menos.
- BEIGEL JH et al ⁹. Ensayo aleatorizado doble ciego controlado con placebo, multicéntrico. Los pacientes que se benefician del REMDESIVIR son aquellos que reciben oxígeno por cánulas, pero no en aquellos que no lo reciben, o en los que reciben alto flujo o ventilación mecánica. En dichos casos, Remdesivir abrevió la recuperación de los pacientes en un 31%, sin efectos significativos sobre mortalidad. Es preciso darlo de modo precoz.
- Estudio SOLIDARITY (OMS), pendiente de evaluación de resultados. De modo provisional, se ha concluido que los cuatro tratamientos evaluados (remdesivir, hidroxicloroquina, lopinavir/ritonavir e interferón) tenían efectos escasos o nulos en la mortalidad general, la iniciación de la respiración mecánica o la duración de la hospitalización en pacientes ingresados.

POSOLOGÍA: Requiere consentimiento escrito. Modelo del Ministerio de Sanidad.

Dosis de carga el primer día de 200 mg/iv seguido de una dosis de mantenimiento de 100 mg/iv durante 5 días. Se puede usar en embarazadas y menores de 18 años.

EFFECTOS ADVERSOS/PRECAUCIONES: Hipotensión infusional. Náuseas y molestias gastrointestinales leves. Se desconocen otros posibles efectos adversos por el momento.

No interacción farmacológica significativa con DXM

CONTRAINDICACIONES: Ténganse en cuenta los criterios de exclusión del ensayo clínico NCT04257656: enfermedad hepática grave (Child Pugh score $\geq$ C, AST $>$ 5 veces el límite superior) y filtrado glomerular $\leq$ 30 mL/min/1.73 m² o pacientes en hemodiálisis.

BARICITINIB/RUXOLITINIB ^{15,16,17}

JUSTIFICACIÓN: Inhibidores de la JAK-1 y JAK-2. Inhiben por un lado la endocitosis del SARS CoV-2 y, por otro, inhiben la señalización de citocinas proinflamatorias. BARICITINIB puede bloquear el proceso de endocitosis del virus mediado por clatrina (inhibe la proteína kinasa 1 asociada a AP2). Otros inhibidores de la JAK son menos activos frente a AAK1. Los inhibidores de la JAK disminuyen o bloquean la señal de

varias citocinas proinflamatorias IL-2, IL-6, e IL-12 y los IFN alfa, INF beta y INF gamma. RUXOLITINIB, inhibidor de la JAK 1 y JAK 2, limita la expansión de los LT CD8 y la producción de citocinas proinflamatorias.

INDICACION: Pacientes con Neumonía bilateral +/- vidrio deslustrado en ausencia de condensación, SatO₂ > 92%. PaO₂/FiO₂ 100-300 mm Hg.

Aprobado por la FDA. Pendiente de aprobación por la EMA.

BIBLIOGRAFÍA:

- ACTT (Adaptive COVID-19 Treatment Trial)-2, pendiente de publicación ¹⁶. Ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, multicéntrico, para evaluar la eficacia y seguridad de baricitinib más remdesivir versus remdesivir más placebo, en enfermos hospitalizados por COVID-19, que requieren o no oxigenación. Los enfermos tratados con baricitinib presentaron un menor requerimiento de ventilación mecánica, invasiva o no invasiva, una reducción de la mortalidad de un 35% y un mejor estado clínico a día 15.
- CAO Y et al ¹⁷. Ensayo clínico prospectivo, aleatorizado, controlado con placebo, multicéntrico, fase II, en enfermos con COVID-19 severa. Recuperación clínica más rápida y mejoría de valores analíticos, no efectos clínicamente significativos.

POSOLOGIA: BARICITINIB: 4 mg/día, vía oral. En > 70 años o si filtrado glomerular 30-60 ml/min: 2 mg/día, a partir del segundo día. Tiempo total de tratamiento: 10-14 días, pero se puede individualizar RUXOLITINIB 5 mg cada 12 h, durante 14 días, vía oral. No precisa de ajuste de dosis en insuficiencia renal leve o moderada. Si el aclaramiento es menor de 30, deberá reducirse la dosis al menos un 50%. Si se administra con otros inhibidores del citocromo P450 (fluconazol), deberá reducirse la dosis a la mitad

REACCIONES ADVERSAS: Trombocitopenia, leucopenia y anemia, elevación de enzimas hepáticas y de CPK, mareos y cefaleas, infecciones bacterianas graves, micobacterianas y fúngicas

CONTRAINDICACIONES: Hipersensibilidad, Embarazo, Neutropenia < 1000 polimorfonucleares/mm³.

INHIBIDORES DE LA IL-6 ^{20,21,22,23,24,25}:

JUSTIFICACIÓN: TOCILIZUMAB y SARILUMAB son anticuerpos monoclonales dirigidos frente al receptor de IL6. TOCILIZUMAB tiene una vida media más larga. SILTUXIMAB es un anticuerpo monoclonal dirigido frente a IL-6.

INDICACION: En pacientes con distrés respiratorio y necesidad de ventilación mecánica invasiva o no invasiva, con niveles elevados de IL-6 > 40

La EMEA la autoriza en el seno de ensayos clínicos.

BIBLIOGRAFÍA:

Destacamos sólo el metaanálisis de TLEYJEH IM et al ²⁵, que engloba 5 ensayos clínicos controlados y 19 estudios observacionales. Atendiendo sólo a los ensayos clínicos controlados, Tocilizumab redujo la necesidad de ventilación mecánica, aunque no disminuyó la mortalidad de los enfermos. Atendiendo a los estudios de cohortes, Tocilizumab redujo la necesidad de ventilación mecánica y la mortalidad.

POSOLOGIA: TOCILIZUMAB: 8 mg/Kg, 400 mg si menos de 75 Kg y 600 mg si más de 75 Kg. Diluir en 100 cc de suero salino, a pasar en una hora; los primeros 15 cc en 15 minutos. Si no se observa respuesta, se puede administrar una segunda dosis, a las 12-24 h de la primera.

Premedicación: 500 mg de paracetamol, 1 ampolla iv de polaramine y MP 40-125 mg iv

PRECAUCIONES y EFECTOS SECUNDARIOS:

VIGILAR tensión arterial (se eleva), presencia de disnea o anafilaxia, hipofibrinogenemia, elevación de GPT.

Las complicaciones más graves son diverticulitis, y reacciones de hipersensibilidad

Se recomienda no considerar como parámetro de referencia la elevación de la IL-6, dado que, debido al mecanismo de acción del TCZ (bloqueo del receptor de IL-6), se espera que los niveles de IL-6 aumenten tras la administración del fármaco.

CONTRAINDICACIONES: Neutrófilos < 500/mm³, plaquetas < 50.000/mm³, infecciones activas, diverticulitis o perforación intestinal, inmunosupresores, AST y ALT > 5 veces el límite superior de la normalidad, embarazo.

INMUNOGLOBULINAS ¹⁴:

JUSTIFICACIÓN: Las inmunoglobulinas pueden desempeñar un papel inmunomodulador en la limitación de la reacción inflamatoria asociada con la infección por SARS-CoV-2.

INDICACION: Neumonía grave con activación macrofágica y distrés, con contraindicación para tratamiento con anticuerpos monoclonales. Se sugiere asimismo que podría tener algún papel en fases tempranas de la enfermedad.

No hay evidencias para su uso (AEMPS). La EMEA la recomienda en el seno de ensayos clínicos.

BIBLIOGRAFÍA:

- LIU X et al¹⁴ Revisión narrativa de los mecanismos de acción y la utilidad de las inmunoglobulinas intravenosas en enfermos con infecciones, incluyendo neumonías virales, y en sujetos con síndrome de activación macrofágica. En el campo concreto de COVID-19, revisan 4 series retrospectivas de enfermos tratados con neumonía por SARS-CoV2 en diferentes situaciones clínicas. En una de estas series (n=58 enfermos) con pacientes en situación grave, se observa una mejoría de mortalidad (J Infect. 2020. 10.1016/j.jinf.2020.03.044). En el resto, datos variables sobre tiempo de recuperación clínica (medRxiv Preprints. 2020. 10.20944/preprints 202003. 0065.v1; Open Forum Infect Dis 2020 Mar; 7(3): ofaa102; Preprints. (2020). 10.20944/preprints 202003. 0065.v1).

POSOLOGIA: 1gr/Kg/día, dos días; o 0,4 g/Kg/día durante 5 días, según la urgencia clínica

Premedicación: Paracetamol 1 gr iv, antihistamínicos (Polaramine® 5 mg iv 2 min) y Actocortina 100 mg (en 50 ml SG 5% 15 min).

Ritmo de infusión según farmacia: Habitualmente: 30ml/h durante los primeros 30' minutos; seguido por 60ml/h, durante los siguientes 30 minutos; 90ml/h, durante los siguientes 30 minutos; 120ml/h , durante los siguientes 30 minutos; y 125ml/h hasta finalizar.

PRECAUCIONES: Asegurar profilaxis de ETV, correcta hidratación los días de administración

REACCIONES ADVERSAS: Poco frecuentes (<5%): fiebre, escalofríos, cefalea, náuseas. Raro: desarrollo de eventos trombóticos arteriales o venosos e insuficiencia renal.

CONTRAINDICACION en déficit severo de inmunoglobulina A

ANAKINRA ^{18,19}:

JUSTIFICACION: Polipéptido recombinante antagonista de los receptores de la IL-1 (IL-1Ra), inhibiendo los efectos de la misma y secundariamente de IL-6 e IL-18 (proinflamatorias); y con ello, reduciendo la síntesis de proteína C reactiva (PCR) y ferritina. Tiene una vida media muy corta (4-6 horas).

Ha demostrado utilidad en LHH secundaria pediátrica y en Adultos

INDICACIÓN: Puede representar un tratamiento efectivo para pacientes en fase hiperinflamatoria. Anakinra puede indicarse también en ausencia de mejoría con Tocilizumab con independencia de los niveles de IL-6.

La EMEA y la AEMPS recomiendan su uso en estudios clínicos.

BIBLIOGRAFÍA:

- HUET T et al ¹⁸. Estudio de cohorte ambispectivo (prospectivo, 52 enfermos; retrospectivo, 44 enfermos) de pacientes con COVID-19, neumonía bilateral y SatO₂ < 93% a pesar de oxigenoterapia a flujo $\geq$ 6 L/min. Anakinra redujo la necesidad de ventilación mecánica y la mortalidad (25 vs 73%); el efecto persiste tras análisis multivariante.
- CAVALLI G et al ¹⁹. Estudio retrospectivo de enfermos (n=29) con COVID-19, con distrés respiratorio moderado/grave e hiperinflamación (PCR $\geq$ 100 mg/L, ferritina $\geq$ 900 ng/mL, o ambas), que seguían tratamiento con ventilación no invasiva fuera de UCI. Efectos favorables sobre necesidad de ventilación mecánica y mortalidad en los tratados con Anakinra.

POSOLOGIA: Dosis de carga: 100 mg/8-12 h sc el primer día, continuando con 100 mg/día sc durante 4 días más (subir a 100 mg/12 h si el paciente no evoluciona bien). Se espera la mejoría en 48-72 h. Reducción progresiva hasta mantener hasta unas 2 semanas, pero se puede individualizar

EFFECTOS ADVERSOS/ PRECAUCIONES: Elevación transitoria de las enzimas hepáticas. Precisa de ajuste a función renal cuando el filtrado es menor 30 ml/min o diálisis. Infecciones respiratorias, neutropenia, trombopenia, cefaleas, reacción en el punto de la inyección, aumento de las cifras de colesterol. No necesita premedicación.

NO SE RECOMIENDA en situación de sepsis documentada por otros patógenos que no sean SARS-CoV-2;

CONTRAINDICACIONES: Neutropenia < 500 mm³. Pacientes con infecciones activas graves y Neoplasias no controladas

CICLOSPORINA A ²⁶:

JUSTIFICACIÓN: La ciclosporina tiene actividad anti-SARS-CoV2 in vitro. La ciclosporina ha sido empleada y está recomendada en el tratamiento de la linfocitosis hemofagocítica, una entidad que comparte con COVID-19 la notable activación macrófaga. Se ha observado que el empleo de inhibidores de la calcineurina no impone un mayor riesgo de enfermedad grave en pacientes transplantados con COVID-19. Finalmente, puede sugerirse que podría emplearse como ahorrador de esteroides en esta entidad

INDICACIÓN: Neumonía por SARS-CoV2 en la que a pesar de tratamiento, no ocurre una evolución favorable hacia la resolución, sino que el enfermo persiste en situación de “no mejoría”/”no progresión”, y en la que se precisa disminuir la dosis de esteroides que se están empleando. Debe haberse asegurado

que se ha recuperado, al menos parcialmente, la cifra de linfocitos (al menos 1000/mm³) y CD4 (al menos 350/mm³). Tiempo de tratamiento 2 semanas pero se puede individualizar.

La EMEA o la AEMPS no la consideran.

BIBLIOGRAFÍA:

- POULSEN NN et al. Revisión del posible empleo de Ciclosporina en el tratamiento de COVID-19.

POSOLOGIA: Inicio con 5 mg/kg/día, vía oral, dividido en dos dosis. Ajuste de dosis en función de niveles plasmáticos.

REACCIONES ADVERSAS: Infecciones sistémicas, hipertensión arterial, deterioro de función renal, alteraciones visuales, convulsiones

VITAMINA D ^{10,11}:

JUSTIFICACION: Antioxidante y cofactor de numerosas reacciones fisiológicas. Doble función: a) la vitamina D favorece la producción de péptidos antimicrobianos en el epitelio respiratorio, lo que hace que sea menos probable la infección con el virus y el desarrollo de síntomas de COVID-19. b) En segundo lugar, la vitamina D podría ayudar a reducir la respuesta inflamatoria en la infección por SARS-CoV-2. c) La vitamina D promueve la expresión de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), empleada por SARS-CoV-2 para entrada en la célula.

La OMS no dicta recomendaciones. La EMA sólo la recomienda en ensayos clínicos. La AEMPS no dicta recomendaciones específicas.

POSOLOGÍA:

- CALCITRIOL, 0,50 microgramos 2 cápsulas al día o Calcitriol 1 microgramo iv al día la primera semana y posteriormente a días alternos, en caso de ventilación mecánica y/o pacientes en UCI.
- CALCIFEDIOL, 0,266 microgramos,
- **PRECAUCION:** Hipercalcemia, aumento de concentración de vitamina D.

PLASMA HIPERINMUNE: (Ensayo Clínico) ¹²

JUSTIFICACION: Los anticuerpos de los pacientes que se han recuperado de COVID 19 pueden contribuir al aclaramiento del virus. En teoría, los efectos de esta terapia serían dentro de los 7-10 primeros días de infección, que es cuando hay mayor viremia y la respuesta inmune primaria aún no se ha producido.

La OMS no dicta recomendaciones. La EMA y la AEMPS sólo la recomiendan en ensayos clínicos.

POSOLOGIA: El procedimiento de transfusión seguirá los requisitos establecidos para cualquier transfusión dentro de la práctica clínica habitual, asegurando la compatibilidad ABO y realizándose siempre bajo la estructura de un Servicio de Transfusión hospitalario y bajo la supervisión de un/a especialista en Hematología y Hemoterapia o personal de enfermería experimentado. El plasma (200 a 250 ml por unidad) se administrará a una velocidad de 10ml/min. Premedicación: antihistamínicos y / o acetaminofén.

EFFECTOS ADVERSOS: Fiebre >38°C, Reacción alérgica, Disnea/Insuficiencia Respiratoria, Náusea / Vómitos, Shock y Escalofríos / Tiritona.

SERVICIO DE
CARDIOLOGÍA
CAULE

GAFAS NASALES						MASCARILLA		RESERVOIRIO
FiO ₂	1 lpm	2 lpm	3 lpm	4 lpm	5 lpm	6 lpm	7 lpm	12 lpm
SatO ₂	24%	28%	32%	36%	40%	50%	60%	70%
97%	403	355	319	290	267	227	200	181
96%	400	352	316	288	266	225	198	179
95%	397	349	313	286	264	224	197	178
94%	393	346	311	283	261	222	196	177
93%	390	343	308	281	260	220	194	176
92%	386	340	306	279	257	219	193	174
91%	382	337	303	277	256	217	192	173
90%	379	334	300	274	253	215	190	172
89%	376	331	298	271	251	214	188	171
88%	372	328	295	269	249	212	187	170
87%	369	325	292	267	246	210	186	168
86%	365	322	290	265	245	208	184	167
85%	361	319	287	262	243	207	183	166

ANEXO 2: NUTRICION EN PACIENTE COVID

ABORDAJE DE LA DESNUTRICIÓN RELACIONADA CON LA ENFERMEDAD EN PACIENTES HOSPITALIZADOS CON COVID-19.

1. Existe un **alto riesgo nutricional**: elevados requerimientos (situación inflamatoria aguda grave) y dificultad para la ingesta (hiporexia y dificultades en alimentación).
2. **Requerimientos nutricionales**:
25-30 Kcal/Kg peso actual/d y 1,5 g proteínas/kg peso actual /d
Peso ajustado obesos: Peso ideal + (Peso real – Peso ideal) / 4

P ideal: Varones: Talla (m²) x 22 ; Mujeres: Talla (m²) x 21
3. Desde el ingreso, **DIETA DE ALTA DENSIDAD NUTRICIONAL (EVITAR DIETAS HIPOCALÓRICAS)**.
Salvo contraindicación, prescribir:

Dieta **basal** o Dieta **basal** para diabetes (no equivale a 1500 kcal) o Dieta **basal** de fácil masticación, si es preciso
4. Si la ingesta no cubre los requerimientos, **AÑADIR SUPLEMENTO HIPERCALÓRICO HIPERPROTEICO EN DESAYUNO, ALMUERZO Y CENA** (aportar al menos 18 gramos de proteínas por comida). **En nuestro centro:**

Suplemento	Kcal	Proteínas
NO DIABETES		
Fresubin Protein Energy Drink 200 cc	300	20
Fortimel Extra 200 cc	320	19,5
Ensure Plus Advance 220 cc	330	20
T-Diet 2 200 cc	400	20
DIABETES		
Diben Drink 200 cc	300	15
Glucerna 1,5 220 cc	330	16,5
DISFAGIA		
Fresubin Thickened 200 cc	300	20

5. Si baja tolerancia, pautar **MÓDULO DE PROTEÍNAS EN CADA COMIDA**:
Proteína Vegenat-Med: Sobres de 10 gr (37 kcal y 8,7 gr proteínas/sobre)
6. Valorar cumplimiento cada 48-72 horas y, **SI NO SE CUBREN REQUERIMIENTOS, CONSULTAR CON LA UNIDAD DE NUTRICIÓN PARA**:
 - **NUTRICIÓN ENTERAL POR Sonda**, complementaria a la oral o completa:
 - Fórmula hipercalórica hiperproteica:
ISOSOURCE ENERGY (500 cc: 750 kcal, 30 g proteínas) O **ISOSOURCE PROTEIN** (500 cc: 600 kcal, 30 g proteínas)

- Valorar fórmula específica para insuficiencia respiratoria si distrés:
PULMOCARE (500 cc: 750 kcal, 31 g proteínas)
- **Nutrición parenteral** si no es posible cubrir requerimientos anteriores (intolerancia gastrointestinal, dificultad de acceso enteral...)

Adaptación local para el HUPM del documento: <https://twitter.com/TuendocrinoSEEN>

Jin et al. A rapid advice guideline for the diagnosis and treatment of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infected pneumonia (standard version). Military Medical Research 2020;7:4.

ANEXO 3: SOPORTE RESPIRATORIO EN PACIENTE COVID:

Buen uso de los diferentes dispositivos para asegurar la ventilación correcta del paciente con COVID 19

<https://www.rccc.eu/calculadoras/Pafi.html>.

<https://www.rccc.eu/calculadoras/SpFi.html>.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Myrstad M, Ihle-Hansen H, Tveita AA, Andersen EL, Nygård S, Tveit A, et al. National Early Warning Score 2 (NEWS2) on admission predicts severe disease and in-hospital mortality from Covid-19 - A prospective cohort study. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*. 2020 Jul 13;28(66):1–8.
2. Sixt T, Moretto F, Devilliers H, Abdallahoui M, Eberl I, Rogier T, et al. The usefulness of NEWS2 at day 7 of hospitalization in predicting COVID-19 evolution and as an early endpoint in therapeutic trials. *J Infect*. 2020 Sep; 28:S0163-4453(20)30639-3.
3. Jamilloux Y, Henry T, Belot A, Viel S, Fauter M, El Jammal T, et al. Should we stimulate or suppress immune responses in COVID-19? Cytokine and anti-cytokine interventions. *Vol. 19, Autoimmunity Reviews*. 2020; 19(7):102567
4. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *The Lancet*. 2020. 395: 1033–4.
5. The RECOVERY Collaborative. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19 — Preliminary Report. *N Engl J Med*. 2020 Jul 17;1–11.
6. Callejas Rubio JL, Luna del Castillo J de D, de la Hera Fernández J, Guirao Arrabal E, Colmenero Ruiz M, Ortego Centeno N. Effectiveness of corticoid pulses in patients with cytokine storm syndrome induced by SARS-CoV-2 infection. *Med Clin (Barc)*. 2020 Aug 28;155(4):159–61.
7. Ruiz-Irastorza G, Pijoan JI, Bereciartua E, Dunder S, Dominguez J, Garcia-Escudero P. Second Week Methyl-Prednisolone Pulses improve prognosis in patients with severe Coronavirus Disease 2019 Pneumonia: An Observational Comparative Study Using Routine Care Data. *PLoS One*. 2020 Sep 22;15(9):e0239401.
8. Wang Y, Zhang D, Du G, Du R, Zhao J, Jin Y, et al. Remdesivir in adults with severe COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet*. 2020 May 16;395(10236):1569–78.
9. Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, Mehta AK, Zingman BS, Kalil AC, et al. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 - Final Report. *N Engl J Med*. 2020 Nov 5;383(19):1813-1826.
10. Ali N. Role of vitamin D in preventing of COVID-19 infection, progression and severity. *J Infect Public Health*. 2020 Oct;13(10):1373-1380.
11. Davies G, Byers J, Garami AR. Covid-19 and Vitamin D Information. Available from: <https://jcm.asm.org/content/48/8/2940>
12. Ensayo clínico fase I/II multicéntrico, aleatorizado y controlado para evaluar la eficacia del tratamiento con plasma hiperinmune obtenido de donantes convalécientes de la infección COVID-19.
13. Xie Y, Cao S, Dong H, Li Q, Chen E, Zhang W, Yang L, Fu S, Wang R. Effect of regular intravenous immunoglobulin therapy on prognosis of severe pneumonia in patients with COVID-19. *J Infect*. 2020 Aug;81(2):318-356.
14. Liu X, Cao W, Li T. High-Dose Intravenous Immunoglobulins in the Treatment of Severe Acute Viral Pneumonia: The Known Mechanisms and Clinical Effects. *Front Immunol*. 2020 Jul 14;11:1660..
15. Stebbing J, Sánchez Nievas G, Falcone M, Youhanna S, Richardson P, Ottaviani S, et al. JAK inhibition reduces SARS-CoV-2 liver infectivity and modulates inflammatory responses to reduce morbidity and mortality. *Sci Adv*. 2020 Nov 13:eabe4724.
16. Coronavirus (COVID-19) Update: FDA Authorizes Drug Combination for Treatment of COVID-19. 19 Nov 2020
17. Cao Y, Wei J, Zou L, Jiang T, Wang G, Chen L, et al. Ruxolitinib in treatment of severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): A multicenter, single-blind, randomized controlled trial. *J Allergy Clin Immunol*. 2020 Jul 1;146(1):137-146.e3.
18. Huet T, Beaussier H, Voisin O, Jouveshomme S, Dauriat G, Lazareth I, et al. Anakinra for severe forms of COVID-19: a cohort study. *Lancet Rheumatol*. 2020 Jul 1;2(7):e393–400.
19. Cavalli G, De Luca G, Campochiaro C, Della-Torre E, Ripa M, Canetti D, et al. Interleukin-1 blockade with high-dose anakinra in patients with COVID-19, acute respiratory distress syndrome, and hyperinflammation: a retrospective cohort study. *Lancet Rheumatol*. 2020;2(6):e325–31.
20. Toniati P, Piva S, Cattalini M, Garrafa E, Regola F, Castelli F, et al. Tocilizumab for the treatment of severe COVID-19 pneumonia with hyperinflammatory syndrome and acute respiratory failure: A single center study of 100 patients in Brescia, Italy. *Autoimmun Rev*. 2020 Jul;19(7):10256820.
21. Salvarani C, Dolci G, Massari M, Merlo DF, Cavuto S, Savoldi L, et al; RCT-TCZ-COVID-19 Study Group. Effect of Tocilizumab vs Standard Care on Clinical Worsening in Patients Hospitalized With COVID-19 Pneumonia: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Intern Med*. 2020 Oct 20:e206615.
22. Gupta S, Wang W, Hayek SS, Chan L, Mathews KS, Melamed ML, et al; STOP-COVID Investigators. Association Between Early Treatment With Tocilizumab and Mortality Among Critically Ill Patients With COVID-19. *JAMA Intern Med*. 2020 Oct 20:e206252.
23. Roche's phase III EMPACTA study showed Actemra/RoActemra reduced the likelihood of needing mechanical ventilation in hospitalised patients with COVID-19 associated pneumonia. Oct 24, 2020; Available from: <https://www.roche.com/media/releases/med-cor-2020-09-18.htm>.
24. Tleyjeh IM, Kashour Z, Damla M, Riaz M, Tlayjeh H, Altannir M, et al. Efficacy and safety of tocilizumab in COVID-19 patients: A living systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect*. 2020 Nov 5:S1198-743X(20)30690-X
25. Poulsen NN, von Brunn A, Hornum M, Blomberg Jensen M. Cyclosporine and COVID-19: Risk or

- favorable? Am J Transplant. 2020 Aug 10;10.1111/ajt.16250.
26. Bikdeli B, Madhavan M V., Jimenez D, Chuich T, Dreyfus I, Driggin E, et al. COVID-19 and Thrombotic or Thromboembolic Disease: Implications for Prevention, Antithrombotic Therapy, and Follow-Up: JACC State-of-the-Art Review. J Am Coll Cardiol. 2020;75(23):2950–73.
 27. Moores LK, Tritschler T, Brosnahan S, Carrier M, Collen JF, Doerschug K, Holley AB, Jimenez D, Le Gal G, Rali P, Wells P. Prevention, Diagnosis, and Treatment of VTE in Patients With Coronavirus Disease 2019: CHEST Guideline and Expert Panel Report. Chest. 2020 Sep;158(3):1143-1163.
 28. Amawi H, Abu Deiaf GI, Aljabali AA, Dua K, Tambuwala MM. COVID-19 pandemic: an overview of epidemiology, pathogenesis, diagnostics and potential vaccines and therapeutics. Ther Deliv. 2020 Apr;11(4):245-268.
 29. Reynolds HR, Adhikari S, Pulgarin C, Troxel AB, Iturrate E, Johnson SB, et al. Renin–angiotensin–aldosterone system inhibitors and risk of covid-19. N Engl J Med. 2020;382(25):2441–8.
 30. Jarcho JA, Ingelfinger JR, Hamel MB, D’Agostino RB, Harrington DP. Inhibitors of the Renin–Angiotensin–Aldosterone System and Covid-19. N Engl J Med. 2020;Editorial:1–3.
 31. Gobierno de España. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social - Documentos técnicos para profesionales - Coronavirus [Internet]. 2020. Available from: <https://www.msccbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos.htm>



Junta de Andalucía

Consejería de Salud y Familias

SERVICIO ANDALUZ DE SALUD

D. ^a MÓNICA SALDAÑA VALDERAS, COMO SECRETARIA DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN DE CÁDIZ,

HACE CONSTAR

Que de acuerdo con lo previsto en la Ley 14/2007, de 3 de julio, de investigación biomédica y el Decreto 957/2020, de 3 de noviembre, por el que se regulan los estudios observacionales con medicamentos de uso humano, este CEI ha revisado en su reunión de fecha 25 de marzo de 2021 el estudio de investigación titulado **Implicaciones de las NETs en la gravedad y complicaciones de la COVID-19. Influencia de la microbiota intestinal (nº de registro 55.21).**

Versión de protocolo: 01 de 23 de febrero de 2021.

Versión de hoja de información al paciente y consentimiento informado: versión 02 de 24 de marzo de 2021.

Y hace constar que el citado proyecto es viable.

Que presenta suficiente rigor metodológico.

Que la evaluación de costes económicos es correcta.

Que con respecto a su vertiente ética el proyecto cumple los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio.

Y que este Comité acepta que dicho estudio sea realizado en el siguiente centro por el siguiente investigador principal, correspondiendo a la Dirección del centro implicado determinar si la capacidad y los medios disponibles son apropiados para realizar el estudio.

Centro	Investigador	Unidad
Hospital Universitario Puerta del Mar	D. José Antonio Girón González	Medicina Interna
	D. ^a Patricia Pérez Guerrero	
	D. ^a Sara Cuesta Camacho	Unidad de Investigación

Y para que así conste, firmo la presente en Cádiz

Firmado por SALDAÑA VALDERAS MONICA - 31663449Q
el día 25/03/2021 con un certificado emitido por AC FNMT
Usuarios

HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DEL MAR

Avenida Ana de Viya, 21 - 11009 Cádiz
Teléfono: 956 00 21 00 www.hupm.com



Junta de Andalucía

Consejería de Salud y Familias

SERVICIO ANDALUZ DE SALUD

CONFORMIDAD DE LA DIRECCIÓN DEL CENTRO

D. Sebastián Quintero Otero, Director Gerente del Hospital Universitario Puerta del Mar y del Hospital de San Carlos y vista la aprobación del Comité de Ética de la Investigación,

CERTIFICA

Que conoce la propuesta realizada por D. José Antonio Girón González como investigador principal para que sea realizado el estudio de investigación titulado **Implicaciones de las NETs en la gravedad y complicaciones de la COVID-19. Influencia de la microbiota intestinal (nº de registro 55.21)**

Versión de protocolo: 01 de 24 de marzo de 2021.

Versión de hoja de información al paciente y consentimiento informado: versión 02 de 24 de marzo de 2021.

Versión de hoja de información para los controles y consentimiento informado: versión 02 de 24 de marzo de 2021.

Que acepta la realización de dicho estudio en el Hospital Universitario Puerta del Mar por los siguientes investigadores

Investigador	Unidad
D. José Antonio Girón González D.ª Patricia Pérez Guerrero	Medicina Interna
D.ª Sara Cuesta Camacho	Unidad de Investigación

Lo que firma en Cádiz, a 26 de marzo de 2021

HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DEL MAR

Avenida Ana de Viya, 21 – 11009 Cádiz
Teléfono 956 00 21 00 www.huportm.com