

Aus dem Bereich  
Zentrum für Infektionsmedizin  
des Instituts für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene  
der Medizinischen Fakultät  
der Universität des Saarlandes, Homburg/Saar

**Die Biomarker TRAIL, IP-10 und CRP in der Infektiologie: Aktuelle Rolle,  
Anwendung bei COVID-19 und zukünftige Perspektiven**

**Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät**

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2024

vorgelegt von: Sina Antonia Tegethoff  
geb. am: 27.09.1996 in Berlin-Neukölln

Erstberichterstatter: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. phil. Sören Becker

Betreuer: Dr. med. Cihan Papan

Tag der Promotion: 02.09.2024

Dekan: Prof. Dr. med. Michael D. Menger

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. phil. Sören L. Becker

Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Robert Bals

Prof. Dr. med. Klaus Überla

# Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung .....	1
1.1	Abstract .....	3
2	Abkürzungsverzeichnis .....	5
3	Abbildungsverzeichnis .....	6
4	Tabellenverzeichnis .....	7
5	Einleitung.....	8
5.1	Einführung in die Infektiologie.....	8
5.1.1	Ansätze in der Infektionsdiagnostik.....	9
5.1.2	Biomarker .....	11
5.1.3	Point-of-Care-Testung .....	11
5.2	COVID-19.....	13
5.2.1	Epidemiologie .....	13
5.2.2	Pathophysiologie .....	14
5.2.3	Klinik.....	15
5.2.4	Diagnostik.....	17
5.2.5	Maßnahmen und Therapieansätze .....	18
5.2.6	Ausblick .....	19
5.3	Neue Biomarker-Kombination.....	20
5.3.1	TRAIL .....	21
5.3.2	IP-10.....	22
5.3.3	CRP .....	22
5.4	Ziele der Arbeit .....	24
6	Material und Methodik.....	25
6.1	Studiendesign und Kollektiv .....	25
6.2	Studienverfahren .....	26
6.2.1	Rekrutierung.....	26
6.2.2	Prozedere.....	26
6.2.3	Datenerhebung.....	27
6.2.4	Gruppenzuordnung und Subanalysen .....	28
6.3	Labormethoden .....	30
6.3.1	Grundlagen der Messungen .....	30
6.3.2	Durchführung der Messungen .....	31
6.3.3	Interpretation der Ergebnisse.....	32
6.4	Statistische Methoden .....	33
6.4.1	Darstellung der Ergebnisse.....	33
7	Ergebnisse.....	34

7.1	Deskriptive Analyse .....	34
7.1.1	Patient*innencharakteristika .....	34
7.1.2	Krankheitsverlauf .....	35
7.1.3	Weiteres .....	37
7.2	COVID-19-Diagnose .....	38
7.3	Überwachung des Krankheitsverlaufs .....	39
7.3.1	Vergleich des COVID-19-Schweregrads .....	39
7.3.2	Einflussfaktoren auf den COVID-19-Schweregrad .....	41
7.3.3	Überlebenszeitanalysen .....	43
7.3.4	Intraindividuelle Schwankungen .....	45
7.4	Abschätzung der Prognose .....	46
7.5	Abschätzung der Infektiosität .....	48
8	Diskussion .....	50
9	Literaturverzeichnis .....	63
10	Publikationen .....	85
10.1	Kongressbeiträge .....	85
11	Danksagung .....	86
12	Lebenslauf .....	87

# 1 Zusammenfassung

## Hintergrund:

Infektionskrankheiten stellen eine große Belastung für das Gesundheitssystem dar und können zu globalen Ausbrüchen führen. Da immun-basierte Biomarker bei Infektionen je nach Ätiologie und Schweregrad unterschiedlich stark gebildet werden, entsteht ein großes Potenzial für die Verbesserung der Infektionsdiagnostik. In dieser Arbeit wurden Tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand (TRAIL), Interferon- $\gamma$ - induced protein 10 (IP-10) und C-reaktives Protein (CRP) bei Coronavirus disease 2019 (COVID-19)-Patient\*innen untersucht und daraus Erkenntnisse für die allgemeine Infektionsdiagnostik abgeleitet.

## Methoden:

Es wurde eine prospektive Kohortenstudie (DIRECTOR) durchgeführt, in der teilnehmende COVID-19-Patient\*innen zwischen März 2020 und Juli 2021 wiederholte Messungen von TRAIL, IP-10 und CRP erhielten. Es wurde ein Vergleich zu Kontrollen vollzogen, um die Eignung der Messwerte für die Stellung der COVID-19-Diagnose zu evaluieren. Durch die Bildung von Subgruppen mit Patient\*innen unterschiedlicher COVID-19-Schweregrade und der Generierung des National Early Warning Scores (NEWS) zur Einschätzung akut Kranker wurden die Biomarker für die Überwachung des Krankheitsverlaufs, sowie der frühzeitigen Abschätzung der Prognose bewertet. Zudem wurde ein Bezug zu möglicher Infektiosität analysiert, welche als Cycle threshold (Ct)-Werte der Virusnachweismethode (PCR)  $\leq 30$  definiert wurde.

## Ergebnisse:

Insgesamt wurden 899 Biomarker-Messungen an 132 COVID-19-Patient\*innen (mittleres Alter 64; 40,2 % weiblich) durchgeführt. COVID-19-Patient\*innen zeigten für TRAIL niedrigere ( $p=0,041$ ) und für IP-10 sowie CRP erhöhte Werte (je  $p < 0,001$ ) im Vergleich zu Kontrollen. Mit steigendem COVID-19-Schweregrad („nicht schwer“  $n=39$ ; „schwer“  $n=62$ ; „kritisch“  $n=31$ ) sanken TRAIL-Level (Median 86 bis 28 pg/ml;  $p < 0,001$ ), während CRP-Level anstiegen (Median 46,8 bis 145,5 mg/l;  $p < 0,001$ ). Für das Versterben auf der Intensivstation stellte ein hohes maximales CRP einen unabhängigen Risikofaktor dar (adjustiertes Odds Ratio 1,02;  $p=0,003$ ) und eine Assoziation zu IP-10-Werten  $> 3000$  pg/ml konnte in Überlebenszeitanalysen gezeigt werden ( $\chi^2 10,5$ ;  $p=0,001$ ). TRAIL wies kurz vor dem Tod sehr niedrige Werte auf. Bei Aufnahme gemessenes TRAIL korrelierte mit dem NEWS-Score ( $r= -0,4459$ ;  $p=0,0012$ ), während IP-10 eine Assoziation zu möglicher Infektiosität aufzeigte ( $r= -0,404$ ;  $p < 0,001$ ).

### Schlussfolgerung:

Insbesondere die Anwendung der Biomarker für die Einschätzung und Überwachung des klinischen Verlaufs von COVID-19 ist vielversprechend. Sie könnte Therapie(de)eskalationen leiten, um die individuelle Gesundheitsversorgung zu verbessern und die Verteilung knapper Ressourcen zu erleichtern. Weitere Studien sind erforderlich, um den klinischen Nutzen zu überprüfen und die Erkenntnisse auf andere Infektionskrankheiten auszuweiten, um letztendlich auf neue Ausbrüche vorbereitet zu sein.

## 1.1 Abstract

### **The biomarkers TRAIL, IP-10, and CRP in infectious diseases: current role, application in COVID-19, and future perspectives**

#### Background:

Infectious diseases cause a high burden for health care systems and can invoke global outbreaks. Since immune-based biomarkers are produced to a different extent in infections depending on aetiology and severity, they display great potential for improving infectious-disease diagnostics. In this work, the use of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL), interferon- $\gamma$ -induced protein 10 (IP-10) and C-reactive protein (CRP) in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) was assessed and insights for general infectious-disease diagnostics were derived.

#### Methods:

Therefore, a prospective cohort study (DIRECTOR) was conducted, in which participating COVID-19 patients received repeated measurements of TRAIL, IP-10, and CRP between March 2020 and July 2021. Comparisons to controls were carried out in order to evaluate the biomarkers' suitability for setting the diagnosis of COVID-19. By forming subgroups of patients with different disease severities, and generating the National Early Warning Score (NEWS) for assessing acutely-ill patients, the biomarkers' applicability for monitoring disease progression and estimating severity at an early stage was analyzed. Additionally, an association with possible infectiousness, defined as cycle threshold (Ct) values of the virus detection method (PCR)  $\leq 30$ , was investigated, .

#### Results:

132 patients with COVID-19 (mean age 64 years, 40.2 % female) were included in the study and received a total of 899 biomarker measurements. TRAIL levels were significantly lower in COVID-19 patients as compared to controls ( $p=0.041$ ) while IP-10 and CRP showed much higher levels ( $p < 0.001$  each). In patients reaching a more severe stage of the disease ("non-severe"  $n=39$ , "severe"  $n=62$ , "critical"  $n=31$ ), TRAIL levels decreased (median 86 to 28 pg/ml,  $p < 0.001$ ) and CRP levels increased (median 46.8 to 145.5 mg/l,  $p < 0.001$ ). For death in the intensive care unit, high maximal CRP posed as an independent risk factor (adjusted odds ratio 1.02,  $p$ -value=0.003), while an association with IP-10 values  $> 3000$  pg/ml was demonstrated in survival analyses ( $\chi^2 10.5$ ,  $p=0.001$ ). Shortly before death, TRAIL displayed very low levels. TRAIL on admission correlated with the NEWS-score ( $r = -0.4459$ ,  $p=0.0012$ ), whereas IP-10 levels were associated with possible infectiousness ( $r = -0.404$ ,  $p < 0.001$ ).



### Conclusion:

The biomarkers seem especially promising for assessing and monitoring the clinical course of COVID-19. They could guide de-/escalation of therapy in order to improve patient health and facilitate the distribution of scarce resources. Further studies are warranted to verify their clinical impact, and to expand the acquired knowledge to other infectious diseases, as a way to be prepared for future outbreaks.

## 2 Abkürzungsverzeichnis

<i>(a)OR</i>	(adjustiertes) Odds Ratio
<i>ACE</i>	Angiotensin converting enzyme
<i>ARDS</i>	Acute respiratory distress syndrome
<i>AST</i>	Aspartat-Aminotransferase
<i>AUC</i>	Area under the curve
<i>CLIA</i>	Chemilumineszenter Immunoassay
<i>COVID-19</i>	Coronavirus disease 2019
<i>CRP</i>	C-reaktives Protein
<i>Ct</i>	Cycle threshold
<i>CXCL10</i>	C-X-C motif Chemokin Ligand 10
<i>DNA</i>	Desoxyribonukleinsäure
<i>ECMO</i>	Extrakorporale Membranoxygenierung
<i>eCRF</i>	Electronic case report form
<i>HIV</i>	Humanes Immundefizienz-Virus
<i>IL</i>	Interleukin
<i>IP-10</i>	Interferon- $\gamma$ -induced protein-10
<i>IQR</i>	Interquartilsabstand
<i>ITS</i>	Intensivstation
<i>KG 1/2</i>	Kontrollgruppe 1/2
<i>LDH</i>	Laktatdehydrogenase
<i>MERS</i>	Middle east respiratory syndrome
<i>mNGS</i>	Metagenomic next-generation sequencing
<i>MxA</i>	Myxovirus Resistenzprotein
<i>NEWS</i>	National Early Warning Score
<i>NST</i>	Normalstation
<i>r</i>	Korrelationskoeffizient
<i>RNA</i>	Ribonukleinsäure
<i>ROC</i>	Receiver operating characteristics
<i>RSV</i>	Respiratorisches Synzytial-Virus
<i>RT-qPCR</i>	Real-time reverse transcription polymerase chain reaction
<i>s</i>	Standardabweichung
<i>SARS-CoV-2</i>	Severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2
<i>TRAIL</i>	Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand
<i>WHO</i>	World health organization

### 3 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Vereinfachte Darstellung der Infektionsdiagnostik .....	10
Abbildung 2: Die ASSURED-Kriterien: Anforderungen an einen Point-of-Care-Test .	12
Abbildung 3: Bestätigte SARS-CoV-2-Neuinfektionen in Deutschland (pro Tag) bis 20.02.2023 .....	13
Abbildung 4: Die Krankheitsschwere von COVID-19 im zeitlichen Verlauf mit beeinflussenden Faktoren .....	15
Abbildung 5: Die WHO-Definitionen des COVID-19-Schweregrads .....	16
Abbildung 6: TRAIL, IP-10 und CRP in bakteriellen und viralen Infektionen .....	20
Abbildung 7: Vereinfachtes Prinzip eines Chemilumineszenten Immunoassays .....	30
Abbildung 8: MeMed Key™-Analysator und Testkassette .....	31
Abbildung 9: Beispieldarstellung der Messergebnisse auf dem Bildschirm des MeMed Key™-Analysators .....	32
Abbildung 10: Balkendiagramm der von COVID-19-Patient*innen genannten Symptome .....	35
Abbildung 11: Differenzielle Expression der Biomarker zwischen Proband*innen der Kontrollgruppen und ersten Messungen der COVID-19-Patient*innen..	38
Abbildung 12: Differenzielle Expression der ersten (A-C) und minimalen/maximalen (D-F) Biomarker-Messungen von COVID-19-Patient*innen in Abhängigkeit vom COVID-19-Schweregrad .....	40
Abbildung 13: Kaplan-Meier-Kurve von COVID-19-Patient*innen in Abhängigkeit des minimalen TRAIL-Werts (Grenzwert 30 pg/ml) mit Endpunkt Tod auf ITS (Maximum bei 150 Tagen). .....	43
Abbildung 14: Kaplan-Meier-Kurve von COVID-19-Patient*innen in Abhängigkeit des maximalen IP-10-Werts (Grenzwert 3 000 pg/ml) mit Endpunkt Tod auf ITS (Maximum bei 150 Tagen) .....	44
Abbildung 15: Kaplan-Meier-Kurve von COVID-19-Patient*innen in Abhängigkeit des maximalen CRP-Werts (Grenzwert 150 pg/ml) mit Endpunkt Tod auf ITS (Maximum bei 150 Tagen). .....	44
Abbildung 16: Die Dynamik von TRAIL-Werten bei auf der ITS verstorbenen COVID-19-Patient*innen kurz vor ihrem Tod .....	45
Abbildung 17: Die Dynamik von IP-10-Werten nach der Verabreichung von synthetischen Glukokortikoiden .....	45
Abbildung 18: Korrelation (A) zwischen initialem TRAIL-Wert der Subgruppe und NEWS-Score, sowie dessen Gruppenvergleich (B) mit Grenzwert 5 ....	46
Abbildung 19: Korrelation (A) zwischen initialem CRP-Wert der Subgruppe und NEWS-Score, sowie dessen Gruppenvergleich (B) mit Grenzwert 5 ....	47

Abbildung 20: Zusammenhänge zwischen gepaarten Ct-Werten und IP-10-Messungen durch (A) eine Korrelationsanalyse aufgeteilt nach Paaren bei COVID-19-Patient\*innen auf der ITS und NST und (B) einem Gruppenvergleich aufgeteilt nach Ct-Werten  $\leq$ / $>$  30..... 48

Abbildung 21: ROC-Kurven und darunterliegende Flächen (AUC) für die Vorhersagekraft der Biomarker TRAIL, IP-10 und CRP auf mögliche SARS-CoV-2-Infektiosität (Ct  $\leq$  30) ..... 49

## 4 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Die am häufigsten gemeldeten Krankheitssymptome von COVID-19 ..... 15

Tabelle 2: Der NEWS-Score: Übersicht und Bewertung..... 28

Tabelle 3: Charakteristika der COVID-19-Patient\*innen..... 34

Tabelle 4: Details zum klinischen Verlauf der COVID-19-Patient\*innen ..... 36

Tabelle 5: Ergebnisse der univariaten, logistischen Regressionsanalyse für die abhängige Variable (A) „kritisches“ COVID-19 und (B) Tod auf ITS. .... 42

Tabelle 6: Ergebnisse der univariablen, logistischen Regressionsanalyse der Subgruppe mit verschiedenen klinischen Endpunkten (A)-(C)..... 47

Tabelle 7: Diagnostische Gütekriterien für verschiedene IP-10-Grenzwerte in der Vorhersage von möglicher SARS-CoV-2-Infektiosität (Ct  $\leq$  30)..... 49

Tabelle 8: Auswertung der Metaanalysen zu mit dem Schweregrad von COVID-19 assoziierten Biomarkern..... 55

## 5 Einleitung

### 5.1 Einführung in die Infektiologie

Die Infektiologie beschäftigt sich mit Krankheiten, die durch pathogene Mikroorganismen wie Viren, Bakterien, Parasiten oder Pilze verursacht werden. Sie können über verschiedene Wege, wie z. B. per Speichel-Tröpfchen durch die Luft, bei Berührungen (Kontaktinfektion) oder durch Lebensmittel übertragen werden. Infektionen betreffen junge, gesunde Menschen ebenso wie Ältere und Vorerkrankte. Infektionskrankheiten stellen eine der häufigsten Todesursachen weltweit dar. Für 2050 prognostiziert die Weltgesundheitsorganisation (engl. World health organization, WHO) 13 Millionen Todesfälle, die mit diesen im Zusammenhang stehen. Besondere Bedeutung haben dabei Infektionen der unteren Atemwege [226]. Somit verbuchen Infektionskrankheiten nicht nur eine große Belastung für das Gesundheitssystem, sondern bergen durch Ausbreitungstendenzen auch stets Potenzial für unvorhersehbare, explosive, globale Auswirkungen [58].

Das klinische Feld der Infektiologie ist stets im Wandel. Durch Zufallsveränderungen (Mutationen) in der Vermehrung können die Erreger ihre Eigenschaften verändern und sich somit an neue Bedingungen anpassen, wie es regelmäßig beim Influenzavirus zu sehen ist [120,199]. Zudem können neue Erreger entstehen oder erstmalig auf den Menschen übertragen werden (Zoonosen), wie z. B. Lassa- oder Ebola-Viren. Auch zunächst überwunden geglaubte Erreger, wie West-Nil- oder Affenpocken-Viren, können erneut auftreten [133,134,136]. Dabei können sich Erreger sowohl an Umweltfaktoren, die menschliche Immunantwort, als auch an antimikrobielle Medikamente anpassen. Insbesondere daraus entstehende Antibiotikaresistenzen, angeheizt durch fehlerhaften Einsatz und übermäßigen Gebrauch, stellen eine der größten Herausforderungen für die globale Gesundheit der heutigen und zukünftigen Zeit dar [58,62,127,135,136,224].

Die Entwicklung und Ausbreitung von Infektionskrankheiten ist außerdem abhängig von menschlichem Verhalten und wird durch soziale Faktoren wie Armut, Zuwanderung, Urbanisierung, Massentourismus und enge Interaktionen mit Tieren begünstigt. Die Einflüsse des Klimawandels sind ebenfalls nicht zu unterschätzen [27,98,129,192,229]. Trotz alledem besteht für Infektionskrankheiten aber auch ein hohes Präventionspotenzial. Durch Schutzmaßnahmen auf persönlicher und öffentlicher Gesundheitsebene, bspw. durch Impfungen, können Infektionen vermieden und letztendlich womöglich die Eradikation erreicht werden, wie es bereits beim Pockenvirus gelungen ist [58,60].

Um der „ewigen Herausforderung der mikrobiellen Anpassung“ [58] gewachsen zu sein, sollte auch die moderne Medizin im stetigen Wandel sein und mit Neu- und Weiterentwicklungen auf Veränderungen reagieren, diese im besten Falle sogar antizipieren und präventionieren. Ganz nach dem Grundsatz „Ohne Diagnostik ist die Medizin blind“ [173] steht dabei die Erkennung und genaue Identifizierung einer Infektionskrankheit im Vordergrund. Die frühe Erkennung dieser ermöglicht die Verbesserung der individuellen Patient\*innenversorgung, das Vermeiden von Komplikationen und letztendlich die Senkung von Morbidität und Mortalität. Ebenso baut die Veranlassung von Maßnahmen zur weiteren Prävention auf der genauen Diagnosestellung auf und es lassen sich Kosten sowie wertvolle Ressourcen einsparen [82].

Als eine der großen Fragen der Infektiologie verbleibt die Anfälligkeit von Individuen: Warum verursachen die gleichen Infektionen unterschiedlichste klinische Verläufe, variierend von asymptomatisch bis hin zu letal? Vermutet wird, dass neben quantitativen und qualitativen Eigenschaften der Erreger auch Umweltbedingungen, sowie immunologische und genetische Aspekte der Infizierten eine Rolle spielen [24,25]. Zusätzlich wird das Geschlecht, das Alter, die Körpertemperatur, das Mikrobiom, Vorerkrankungen, der Immunitätsstatus und die Ernährung der Betroffenen mit der Anfälligkeit für schwere Infektionen in Verbindung gebracht. Zuletzt verbleibt außerdem das Element des Zufalls [23].

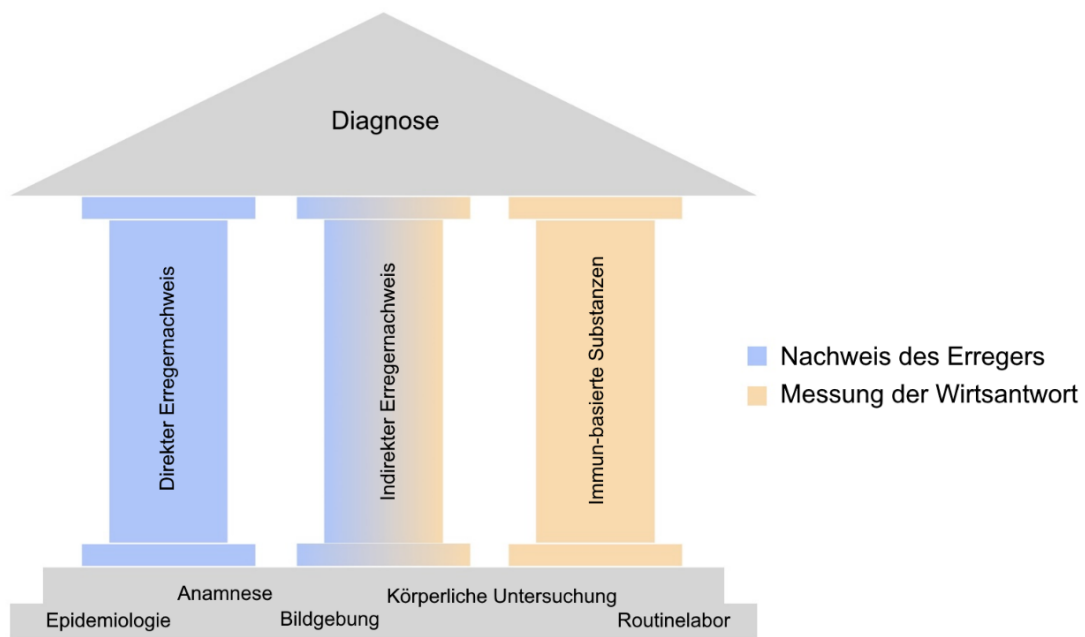
### **5.1.1 Ansätze in der Infektionsdiagnostik**

Die Durchführung einer eingehenden Infektionsdiagnostik ist vorrangig bei Vorliegen oder Verdacht auf eine akute Infektion indiziert. Mitunter wird sie allerdings auch bei fehlender klinischer Symptomatik, z. B. in Form von Screening-Untersuchungen oder Überprüfungen eines Immun- bzw. Impfstatus, durchgeführt. Die infektiologische Diagnostik beginnt bereits mit der Anamneseerhebung und körperlichen Untersuchung. Epidemiologische Kenntnisse fließen hier mit ein. Des Weiteren können bildgebende Verfahren eine Verdachtsdiagnose erhärten oder in seltenen Fällen die Diagnose stellen, wie z. B. die Röntgen-Thorax-Aufnahme bei der Pneumonie. Auch allgemeine Laborparameter oder Ähnliches können herangezogen werden. Weiterführend lassen sich zwei grundsätzliche Ansätze voneinander unterscheiden, die der Diagnosestellung dienen: der Erregernachweis und die Messung der Wirtsantwort (Abbildung 1).

Für den Erregernachweis wird in der Regel nach Stellung einer klinischen Verdachtsdiagnose und weniger Differenzialdiagnosen eine spezifische Diagnostik in die Wege geleitet. Dabei werden direkte von indirekten Verfahren abgegrenzt. Der direkte

Erregernachweis wird durch Verfahren wie die Mikroskopie, Kultivierung oder molekularbiologische Techniken (z. B. Amplifizierung) ermöglicht.

Der indirekte Nachweis bildet eine Schnittstelle zwischen Erregernachweis und Messung der Wirtsantwort. Er beruht auf der Detektion von Antikörpern, die gegen die entsprechenden Erreger gerichtet sind und in der stattfindenden/stattgefundenen Immunreaktion gebildet werden/wurden [75,246]. Da die meisten Infektionskrankheiten durch einen alleinigen Erreger verursacht werden, kann dessen Nachweis die Einleitung spezifischer Maßnahmen, wie wirksame Therapien oder Immunisierungen, ermöglichen [58].



**Abbildung 1:** Vereinfachte Darstellung der Infektionsdiagnostik, erstellt mit Apple Pages, in Anlehnung an [75,246]

Die Messung weiterer Substanzen, die während der Wirtsantwort gebildet werden, ist ebenfalls ein wichtiges Instrument in der Infektionsdiagnostik. Unspezifische Entzündungsparameter im Blut geben oft schon Hinweise darauf, ob eine Infektion als Ursache der Krankheitssymptomatik vorliegt. Da der menschliche Körper auf bakterielle Infektionen mit anderen Mechanismen reagiert als auf virale Infektionen, kann durch die Messung körpereigener, immun-basierter Substanzen mitunter auf die infektiologische Ätiologie geschlossen werden. Manche Substanzen können zudem als Verlaufparameter eingesetzt werden oder Hinweise auf die Schwere der Infektion geben, welche je nach individueller Anfälligkeit variiert [75,201].

Die Mittel in der Infektionsdiagnostik sind stark von der Ausstattung der jeweiligen Einrichtung und von verfügbaren Ressourcen abhängig. Eine exakte Diagnose kann nicht immer oder nur verzögert gestellt werden, weshalb Therapien oft alleinig vom

klinischen Bild und epidemiologischen Wahrscheinlichkeiten abhängig gemacht werden („empirisch“). Unter Umständen wird diese im weiteren Verlauf angepasst. Zudem existiert nicht immer eine spezifische Therapie, insbesondere nicht bei viralen Infektionen.

### **5.1.2 Biomarker**

Biomarker sind „definierte Merkmale, die als Indikatoren für normale biologische Prozesse, pathologische Prozesse oder Reaktionen auf eine Exposition oder Intervention gemessen werden“ [59]. Sie finden in nahezu allen medizinischen Fachbereichen Anwendung, insbesondere als Tumormarker in der Onkologie.

In der Infektiologie spielen immun-basierte Biomarker eine große Rolle, da sie durch Aktivierung des Immunsystems vermehrt oder vermindert gebildet werden. Das Spektrum ist breit und beinhaltet neben der Messung von allgemeinen Entzündungsparametern, wie der Leukozytenzahl, auch spezifischere Parameter wie Procalcitonin, Interleukine oder Interferone [82,137,201].

Biomarker leisten im infektiologischen Alltag auf unterschiedliche Weise Hilfestellung: Ein diagnostischer Biomarker hilft bei der Zuordnung von Krankheitsbildern. Optimalerweise ermöglicht er die Unterscheidung zwischen infektiöser und nicht-infektiöser Ursache, sowie die Differenzierung verschiedener infektiologischer Entitäten.

Des Weiteren können Biomarker der Verlaufskontrolle dienen. Durch wiederholte Messungen soll der Krankheitsverlauf überwacht und das Ansprechen auf Therapien kontrolliert werden können.

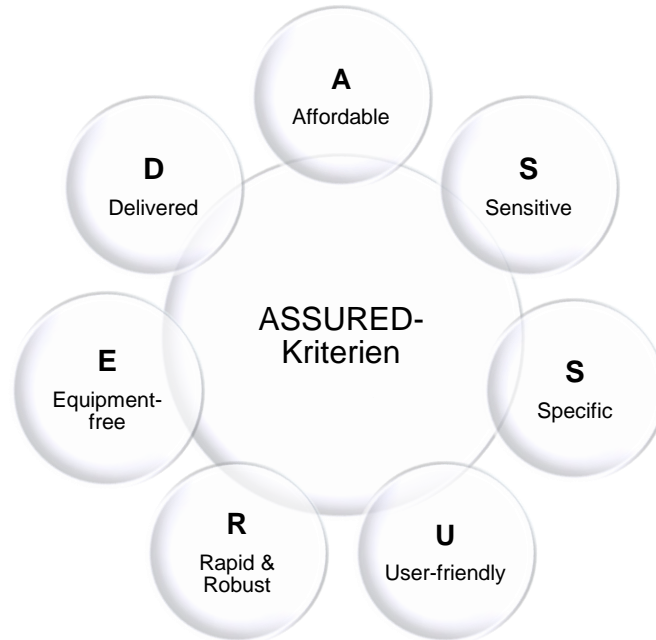
Mit prognostischen Biomarkern kann der zu erwartende individuelle Verlauf von Krankheiten abgeschätzt werden. Dabei sollten sie die Wahrscheinlichkeit für das Eintreten eines klinischen Ereignisses bzw. das Wiederauftreten oder Fortschreiten der Krankheit anzeigen [59,82].

### **5.1.3 Point-of-Care-Testung**

Einige Biomarker können in Form von Point-of-Care-Testungen gemessen werden. Dies sind Testungen, die nahe an Patient\*innen getätigt werden und Messergebnisse in kürzester Zeit bereitstellen, ohne aufwendige Labormethoden oder hochqualifiziertes Personal zu benötigen. Insbesondere für den ambulanten, notfallmäßigen und ressourcenlimitierten Sektor sind diese Tests von großer Bedeutung [32].



Ein optimaler Point-of-Care-Test wird durch die ASSURED-Kriterien der WHO beschrieben (Abbildung 2). Ursprünglich wurden diese für die Diagnostik von sexuell übertragbaren Erkrankungen in ressourcenlimitierten Umgebungen entwickelt. ASSURED stellt ein Akronym für die enthaltenen Begriffe auf Englisch dar.



**Abbildung 2:** Die ASSURED-Kriterien: Anforderungen an einen Point-of-Care-Test, in Anlehnung an [10,100]

Der Test sollte demnach für Betroffene und Risikopatient\*innen erschwinglich (affordable) sein, eine hohe Sensitivität (sensitive) und Spezifität (specific) aufweisen, für die Anwendenden einfach auszuführen sein (User-friendly) und Ergebnisse in kürzester Zeit liefern (rapid). Ebenso sollte er robust gegenüber Umwelteinflüssen sein (robust), ohne viel Ausrüstung auskommen (equipment-free) und dort verfügbar sein, wo er benötigt wird (delivered) [10,100].

Eine hohe Sensitivität besagt, dass der Test wenige falsch-negative Ergebnisse aufweist und somit aus einer Kohorte möglichst viele Erkrankte herausfiltert. Demgegenüber wird von Tests mit einer hohen Spezifität erwartet, dass wenige falsch-positive Ergebnisse auftreten und somit möglichst keine Krankheiten fälschlicherweise diagnostiziert werden [152].

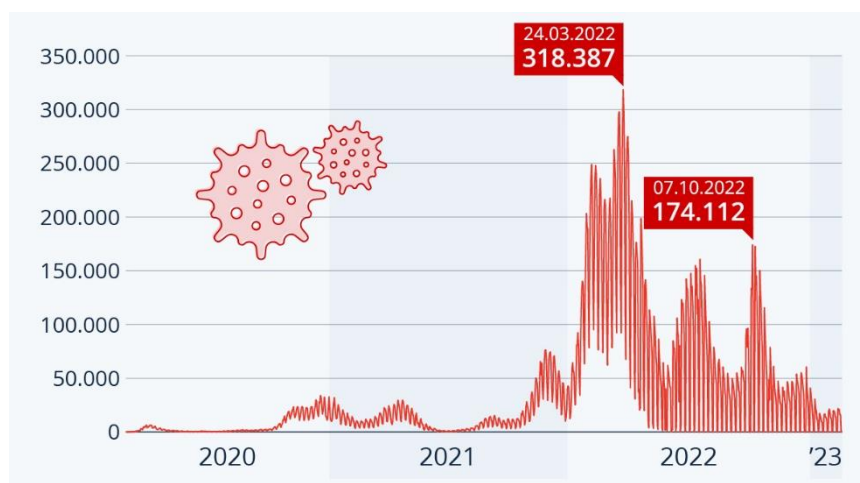
## 5.2 COVID-19

Die Coronavirus-Erkrankung (engl. Coronavirus disease 2019, COVID-19) ist eine Viruserkrankung, die durch Infektion mit dem Severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2 (SARS-CoV-2) ausgelöst wird. Erste Fälle wurden im Dezember 2019 in der Volksrepublik China detektiert. Daraufhin verbreitete sich das Virus rapide auf der gesamten Welt, was die WHO dazu veranlasste, COVID-19 am 11. März 2020 als Pandemie einzustufen. Zum damaligen Zeitpunkt waren bereits 118 000 Infektionen verteilt auf 114 Länder übermittelt [221].

### 5.2.1 Epidemiologie

Der epidemiologische Verlauf von COVID-19 ist wellenförmig und unterliegt saisonalen Schwankungen (Abbildung 3). Zudem entstehen regelmäßig neue Varianten durch Mutationen, die durch die exponentielle Ausbreitung des Virus begünstigt werden. Sie weisen zum Teil unterschiedliche Ausbreitungstendenzen und Bedenklichkeiten auf [12,77,78,130,132].

Weltweit wurden bis zum Verfassen dieser Dissertationsschrift insgesamt 769 806 130 SARS-CoV-2-Infektionen und 6 955 497 Todesfälle durch bzw. mit COVID-19 bestätigt (Stand 16.08.2023) [227]. Von einer hohen Dunkelziffer ist auszugehen, da viele Verläufe symptomlos verlaufen und nicht von einer flächendeckenden diagnostischen Testung, ebenso wie von keiner exakten Fallübermittlung, ausgegangen werden kann. Für Deutschland wurden 38 437 756 Infektionen und 174 979 Todesfälle übermittelt (Stand 16.08.2023) [227]. In einer Seroprävalenzstudie wurde die Dunkelziffer der während der ersten COVID-19-Welle (bis 10/2020) mit SARS-CoV-2-Infizierten im Saarland auf ungefähr dreimal so hoch geschätzt [117].



**Abbildung 3:** Bestätigte SARS-CoV-2-Neuinfektionen in Deutschland (pro Tag) bis 20.02.2023, nach [189]

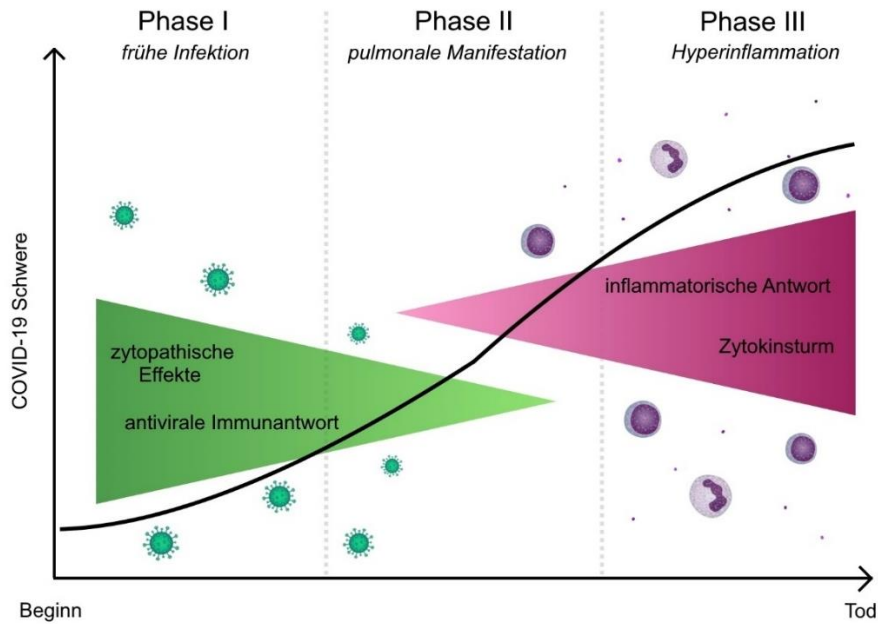
### 5.2.2 Pathophysiologie

SARS-CoV-2 ist ein behülltes, einzelsträngiges Ribonukleinsäure (engl. ribonucleic acid, RNA)-Virus aus der Familie der Coronaviridae [118]. Coronaviren sind zoonotisch und haben ihr Tierreservoir insbesondere in Fledermäusen, aber auch in anderen Säugetieren wie Kamelen, Mäusen und Ratten. Durch Anpassung des Erregers und engen Kontakt zu infizierten Tieren ist eine Übertragung auf den Menschen möglich [42,179,210].

Zwischen Menschen wird SARS-CoV-2 hauptsächlich durch Tröpfcheninfektion und infektiöse Aerosole des Respirationstrakts, sowie zu einem geringen Grad durch direkten oder indirekten Kontakt übertragen [116,212,217]. Direkt geschieht dies durch Körperkontakt, indirekt durch Berührung von kontaminierten Gegenständen (auch Schmierinfektion).

Mittels seines Spike-Proteins dockt das Virus an Wirtszellen, vorrangig Alveolarepithelzellen, an. Dabei benutzt es das Angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) der Zielzellen als Rezeptor und gelangt durch Endozytose oder Membranfusion nach intrazellulär [110,111,180]. Nach Freisetzung der Nukleinsäure vermehrt es sich dort durch Replikation, Transkription und Translation. Nach vollendetem Zusammenbau der neuen Viruspartikel werden diese durch Exozytose freigesetzt und infizieren weitere Zellen [42,154]. Eine weitere Organbeteiligung, insbesondere von Niere, Leber und Gefäßsystem, wird abhängig der ACE2-Rezeptor-Dichte beschrieben [68,70]. Seit Auftreten der ersten Infektionsfälle (Wildtyp B.1) sind durch Mutationen zahlreiche SARS-CoV-2-Varianten entstanden, von denen bisher fünf als besorgniserregend eingestuft wurden. [22,132,198]. Seit Ende 2021 sind die Omikron-Variante (B1.1.529) und deren Sublinien weltweit vorherrschend.

Der Krankheitsverlauf von COVID-19 lässt sich in mehrere Phasen unterteilen (Abbildung 4). Initial stehen direkte zytopathische Effekte durch die Virusreplikation, sowie die antivirale Immunantwort im Vordergrund. Die Viruslast des Wildtyps erreicht ihren Höhepunkt circa 5 Tage nach Symptombeginn [29], während bspw. die Replikation der Omikron-Variante schneller verläuft [234]. Der weitere, schwere Krankheitsverlauf wird von einer dysregulierten Immunantwort mit Hyperinflammation und Zytokinsturm bestimmt, welche letztendlich zum (Multi-)Organversagen und Tod führen kann [47,200].



**Abbildung 4:** Die Krankheitsschwere von COVID-19 im zeitlichen Verlauf mit beeinflussenden Faktoren, erstellt mit Apple Pages, in Anlehnung an [47,200]

### 5.2.3 Klinik

Die Inkubationszeit einer SARS-CoV-2-Infektion, also die Zeitspanne von Ansteckung bis Symptombeginn, beträgt für den Wildtyp im Mittel circa fünf Tage [126], wobei sie sich bei Varianten wie Omikron und Delta (B.1.617.2) auf circa drei Tage verkürzt [48,234]. Manche Infektionen verbleiben asymptomatisch. Der Manifestationsindex, welcher den Anteil der Infizierten beschreibt, die tatsächlich erkranken, wird für den Wildtyp auf 55-85 % geschätzt [18,142].

Der Krankheitsverlauf von COVID-19 variiert stark zwischen Betroffenen und auch zwischen ursächlichen Virusvarianten. Häufig beschriebene Krankheitssymptome sind in Tabelle 1 dargestellt.

**Tabelle 1:** Die am häufigsten gemeldeten Krankheitssymptome von COVID-19, nach [166,171]

Husten	Kopf- und Gliederschmerzen
Fieber	Bauchschmerzen
Schnupfen	Appetitlosigkeit
Halsschmerzen	Übelkeit/Erbrechen
Luftnot	Durchfall
Störung des Geschmacks- und/oder Geruchssinns	Hautausschlag

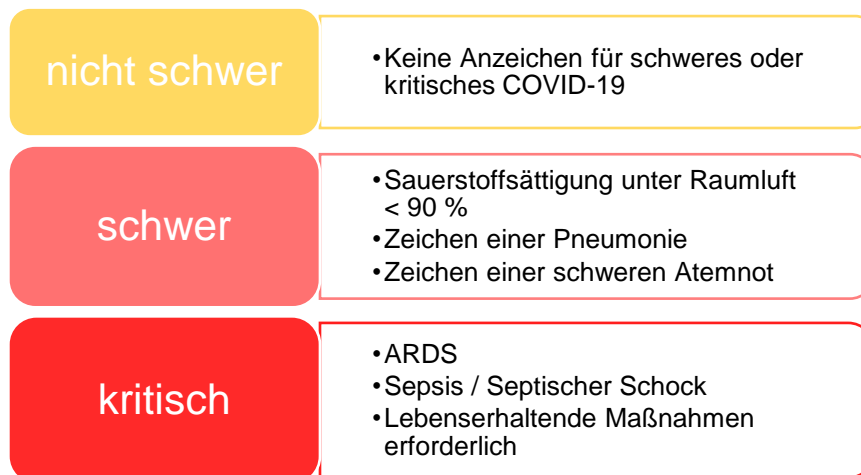
Initial entstehen zumeist Fieber und trockener Husten [166,171]. Bei Infektion mit der Omikron-Variante treten im Vergleich zum Wildtyp häufiger Halsschmerzen und seltener Störungen des Geschmacks-/Geruchssinns auf [167]. Im weiteren Verlauf kann sich die Luftnot verschlimmern und eine Pneumonie entstehen. In kritischen Verläufen kann diese in ein akutes Lungenversagen (engl. Acute respiratory distress syndrome, ARDS) übergehen, welches mitunter beatmungspflichtig ist oder eine extrakorporale Membranoxygenierung (ECMO) erfordert. Zusätzliche Organbeteiligungen sind ebenso wie die daraus entstehenden Symptome variabel. Bspw. wird über thromboembolische Komplikationen, endokrine Entgleisungen und Beeinträchtigungen von Leber- und Nierenfunktion berichtet [68,70].

Ko-Infektionen können eine Rolle im individuellen Krankheitsverlauf spielen [101].

Bis Februar 2021 lag der Anteil an hospitalisierten COVID-19-Fällen im Vergleich zu allen übermittelten Infektionen in Deutschland bei circa 10 %. Ungefähr 33 % von ihnen mussten im Verlauf auf der Intensivstation (ITS) versorgt werden, während bei 20 % dieser Intensivpatient\*innen eine maschinelle Beatmung und bei 10 % eine ECMO erforderlich wurde [172]. Infektionen mit der Omikron-Variante scheinen milder zu verlaufen [84,139], was aber auch an der Verbesserung der Patient\*innenversorgung und an Impfkampagnen liegen kann.

Des Weiteren wird vermehrt über langfristige Einschränkungen nach der Infektion (> 4 Wochen) berichtet, was bei Persistenz bis zu 12 Wochen als Long- und darüber hinaus als Post-COVID bezeichnet wird. Dabei kann es sich um ein Fortbestehen der Symptome oder um neue Symptome/die Verschlechterung einer Vorerkrankung, die als Folge der Infektion verstanden werden, handeln [138,186]. Oft werden Fatigue, Myalgie und Konzentrationsschwäche beschrieben [163,193].

In den Leitlinien der WHO zur therapeutischen Versorgung COVID-19-Erkrankter werden drei Schweregrade unterschieden (Abbildung 5).



**Abbildung 5:** Die WHO-Definitionen des COVID-19-Schweregrads, in Anlehnung an [225]

Als Zeichen der schweren Atemnot werden ein Einsatz der Atemhilfsmuskulatur, eine Atemfrequenz > 30 pro Minute und die Unfähigkeit, ganze Sätze zu vollenden, genannt. Als lebenserhaltende Maßnahmen gelten die maschinelle Beatmung, invasiv sowie nicht-invasiv, und der Einsatz von Vasopressoren [225].

### 5.2.4 Diagnostik

In einer pandemischen Lage ist das Vorhandensein von COVID-19-typischen Symptomen und ein eventuell stattgefundenener Kontakt zu Infizierten zum Teil bereits aussagekräftig. In der virologischen COVID-19-Diagnostik finden drei Techniken Anwendung:

Der Goldstandard für die Bestätigung einer SARS-CoV-2-Infektion in der Akutdiagnostik ist der RNA-Nachweis durch Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion in Echtzeit (engl. Real-time reverse transcription polymerase chain reaction, RT-qPCR). Es handelt sich dabei um eine Nukleinsäure-Amplifikationstechnik. Als Probenmaterial werden respiratorische Sekrete verwendet, zumeist aus tiefen nasopharyngealen Abstrichen. Sofern eine Infektion vorliegt, schreibt die Reverse Transkriptase die virale RNA zunächst in komplementäre Desoxyribonukleinsäure (engl. deoxyribonucleic acid, DNA) um. Diese wird anschließend durch DNA-Polymerasen amplifiziert. Nach jedem Zyklus wird dabei die entstandene Menge analysiert. Die Anzahl der Zyklen, die nötig ist, um das Virus nachzuweisen, wird Cycle threshold (Ct)-Wert genannt. Je mehr Viren im Probenmaterial vorhanden sind, desto weniger Zyklen sind für den Nachweis nötig. Dementsprechend verbirgt sich hinter einem niedrigen Ct-Wert eine hohe Viruslast. Die SARS-CoV-2-RT-qPCR wird bei einem Ct-Wert von < 40 als positiv gewertet [13,111,176]. Durch den Nachweis von viraler RNA lässt sich allerdings nicht aussagen, ob es sich lediglich um Virusfragmente handelt, oder ob sich lebensfähige Viruspartikel in der Probe befinden. Nur im zweiten Falle wäre die getestete Person infektiös [29,159]. Zudem sind PCR-Testungen zeitaufwendig, teuer und gut ausgestatteten Laboren vorbehalten [169].

Antigen-Schnelltests stellen eine Alternative für die Diagnostik in der akuten Phase dar. Hier werden Virusproteine von SARS-CoV-2 in respiratorischen Sekreten mittels Lateral-Flow-Tests, eine Kombination aus Dünnschichtchromatographie und Immunassay, nachgewiesen [96]. Es handelt sich um Point-of-Care-Tests, die Ergebnisse innerhalb von 15 Minuten liefern. Sensitivität und Spezifität sind hingegen limitiert und variieren stark zwischen Herstellern. Ein negativer Test sollte, insbesondere bei Vorliegen von charakteristischen Krankheitssymptomen, mit Vorsicht interpretiert und positive Tests mittels RT-qPCR bestätigt werden. In der pandemischen Lage sind Antigentests

allerdings hilfreich für die Infektionskontrolle aufgrund ihrer flächendeckenden Verfügbarkeit, schnellen und einfachen Durchführung, sowie Kostengünstigkeit [13,219,232].

In späteren Krankheitsphasen, zum Nachweis einer durchgemachten Infektion und einer Impfantwort, können spezifische Antikörper gegen SARS-CoV-2 nachgewiesen werden. Dafür existieren Labor- und Schnelltests [50,176].

### **5.2.5 Maßnahmen und Therapieansätze**

Die wichtigste Maßnahme in der Bekämpfung von COVID-19 ist die aktive Immunisierung (Impfung). Sie schützt vor schweren Verläufen und dient der Transmissionsreduktion. Zudem dienen Basishygiene, Regeln wie AHA+L (Abstand, Hygiene, Alltagsmaske, Lüften) und die Isolierung von Infizierten der Infektionsprävention [19,93]. Die Dauer der Isolierung kann entweder allgemein durch gesetzliche Vorgaben (z. B. 14 Tage nach Symptombeginn) oder individuell durch Einschätzung der Infektiosität anhand der Viruslast festgesetzt werden [86]. Da ab einem Ct-Wert > 30 keine Infektiosität mehr zu bestehen scheint, wurde dies als Grenzwert festgesetzt [140].

Eine spezifische Therapie für COVID-19 existiert aktuell nicht und Empfehlungen werden stets überarbeitet. Bei milden Verläufen kann eine symptomatische Therapie (z. B. mit Paracetamol) erfolgen. Bei beginnender Luftnot sollte frühzeitig Sauerstoff verabreicht werden. Im weiteren Verlauf können unterschiedlichste Substanzen wie antivirale Wirkstoffe (z. B. Nirmatrelvir/Ritonavir, Remdesivir), monoklonale Antikörper (z. B. Casirivimab/Imdevimab, Tocilizumab), Glucocorticoide (z. B. Prednisolon, Dexamethason), Januskinase-Inhibitoren (z. B. Baricitinib) und viele mehr eingesetzt werden. Ko-Infektionen sollten adäquat behandelt werden. In kritischen Verläufen kann unter anderem eine kreislaufunterstützende Therapie, maschinelle Beatmung, Nierenersatzverfahren und/oder ECMO vonnöten sein [93,225].

### 5.2.6 Ausblick

Durch Impfungen von Risikogruppen und großen Teilen der Bevölkerung konnte die Sterblichkeits- und Ansteckungsrate von COVID-19 erfolgreich gesenkt werden, woraufhin die WHO den ausgerufenen Notstand im Mai 2023 für beendet erklärte [228]. Ein Verschwinden von SARS-CoV-2 ist allerdings nicht in Sicht. Drei zukünftige Szenarien sind möglich: Endemie, Epidemie, Pandemie. Ähnlich zu anderen Coronaviren könnte COVID-19 im Rahmen einer Erkältungskrankheit mit geringen gesundheitlichen Auswirkungen endemisch werden. Alternativ ist der Übergang in eine epidemische, saisonale Krankheit, ähnlich zu Influenza, möglich. Allerdings sollte nicht vergessen werden, dass Influenza jährlich bis zu 650 000 globale Todesfälle verursacht und daher eine enorme gesundheitliche Belastung darstellt [83,146]. Im schlimmsten Falle gelingt neuen SARS-CoV-2-Varianten die Immunevasion, die Lage kann nicht unter Kontrolle gebracht werden, schwere Verläufe von COVID-19 werden wieder die Regel und wir finden uns am Anfang einer neuen Pandemie [6,12,88,205]. Die gesundheitlichen Auswirkungen des Long-/Post-COVID-Syndroms sind ebenfalls noch nicht abzuschätzen [163,193].

Aufgrund der Eigenschaften von Infektionserregern ist es außerdem nur eine Frage der Zeit, bis andere Erreger Ausbrüche verursachen [49,162].

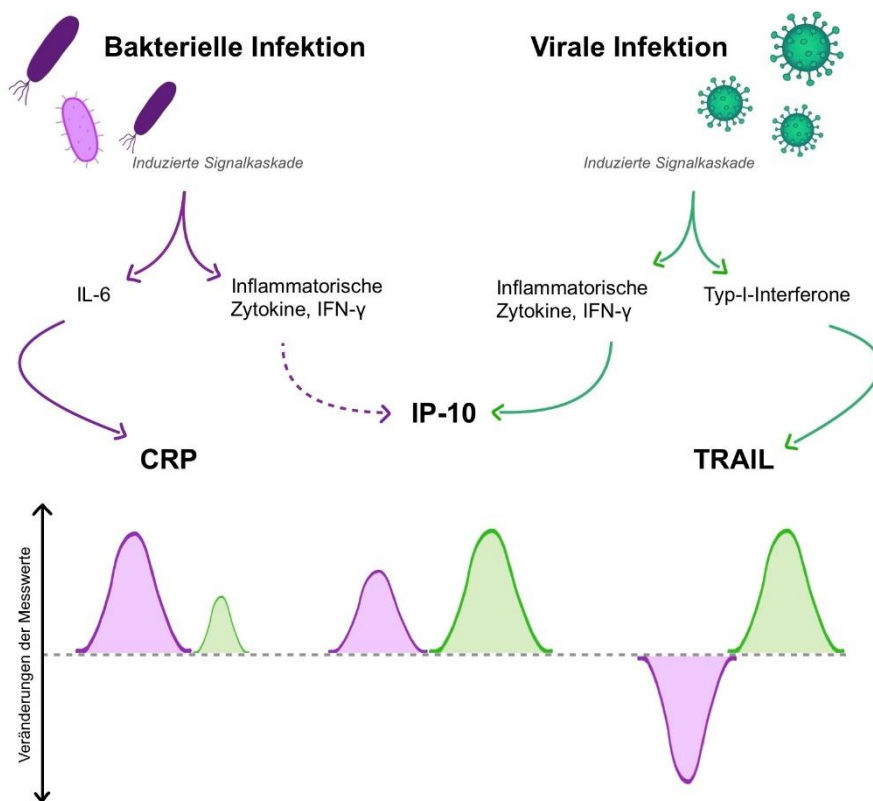
In jedem Falle ist und wird es auch weiterhin wichtig sein, klinische Verschlechterung frühzeitig zu detektieren, um fulminanten Verläufen möglichst vorzubeugen. Die Implementierung einer Überwachung und der Einsatz vielversprechender Therapieoptionen stellen nur Beispiele dafür dar. Sofern eine klinische Verschlechterung unwahrscheinlich ist, kann diese Kenntnis Patient\*innen ebenfalls vor invasiven Maßnahmen schützen und knappe Ressourcen einsparen. Insofern entsteht ein zusätzlicher Nutzen auf Ebene des Gesundheitssystems.

Da die Immunfunktion während des klinischen Verlaufs von COVID-19 dynamischen Veränderungen unterliegt und die Hyperinflammation eine wichtige Rolle in der Entwicklung eines schweren Krankheitsverlaufs spielt, scheint dessen Überwachung zweckmäßig. Dazu eignen sich insbesondere immun-basierte Biomarker.



### 5.3 Neue Biomarker-Kombination

Eine kürzlich entwickelte Kombination aus den drei im Serum gemessenen, immunbasierten Biomarkern Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL), Interferon- $\gamma$ -induced protein 10 (IP-10) und C-reaktives Protein (CRP) soll die Differenzierung zwischen viraler und bakterieller infektiologischer Ätiologie erleichtern (Abbildung 6). Die einzelnen gemessenen Biomarkerlevel werden dazu zu einem Score verrechnet (MeMedBV™), welcher Werte von 0 bis 100 annehmen kann. Bei Werten von über 65 liegt mit hoher Wahrscheinlichkeit eine bakterielle Infektion vor, während Werte von unter 35 für eine virale Infektion sprechen. Der Zwischenbereich lässt keine Rückschlüsse zu [144]. In Validierungsstudien erreichte der Score eine Sensitivität von bis zu 93 %, eine Spezifität von bis zu 94 % und einen negativen Vorhersagewert von 98,9 % [144,150,188,213]. Der negative Vorhersagewert gibt an, mit welcher Wahrscheinlichkeit ein negatives Testergebnis (hier: keine bakterielle Infektion) den wahren Zustand beschreibt. Der Test birgt somit ein hohes Potenzial für die Verbesserung des Einsatzes von Antibiotika [150].



**Abbildung 6:** TRAIL, IP-10 und CRP in bakteriellen und viralen Infektionen, erstellt mit Apple Pages, in Anlehnung an [144]

Zusätzlich zur Anwendung in der beschriebenen Kombination sind die drei Biomarker auch in der alleinigen Stellung vielversprechend für die infektiologische Diagnostik.

### 5.3.1 TRAIL

TRAIL gehört zur Superfamilie der Zytokine, die als Botenstoffe bei der Signalübertragung zwischen Zellen und bei deren Regulation fungieren. Zugehörig zur Gruppe der Tumornekrosefaktoren, ist es insbesondere im Rahmen der Akuten Phase an Entzündungsprozessen beteiligt. TRAIL ist ein Transmembranprotein, welches von Immunzellen, insbesondere von Lymphozyten, aber auch von natürlichen Killerzellen und Makrophagen exprimiert wird [222].

Insbesondere in viralen Infektionen und bei neoplastischen Erkrankungen werden Typ-I-Interferone, die ebenfalls Zytokine sind, gebildet. Diese aktivieren eine bestimmte Protease, welche die extrazellulär befindlichen Anteile des Transmembranproteins abspaltet, wodurch das im Serum befindliche, lösliche TRAIL entsteht. Diesem stehen fünf Rezeptoren zur Bindung an unterschiedlichen Zielstrukturen bereit. Durch Bindung an die TRAIL-Rezeptoren-R1 (Todesrezeptor 4) und R2 (Todesrezeptor 5) wird die Caspase 8 aktiviert, welche der Initiator des extrinsischen Apoptosewegs, des programmierten Zelltods, ist. Nach Bildung des Tod-induzierenden Signalkomplexes (DISC) werden die Effektorcaspasen 3, 6 und 7 aktiviert, welche letztendlich durch Zerschneiden von Proteinen die Apoptose der Zielzelle herbeiführen [56,148,194,216]. Eine Bindung an die weiteren TRAIL-Rezeptoren (R3, R4 und Osteoprotegerin) erzielt keine spezifische Wirkung. Durch kompetitive Bindung von TRAIL fungieren diese Rezeptoren mehr als „Köder“, um die Initiierung der Apoptose zu hemmen und somit zu regulieren [148,149,194].

Die Apoptose ist ein wesentlicher physiologischer Prozess, der die zielgerichtete Entfernung von Zellen ermöglicht. Dies ist sowohl für die normale Entwicklung und Funktion des Organismus, als auch für die Bekämpfung von Krankheiten bedeutend [51]. Im Immunsystem spielt die Apoptose eine große Rolle in der Entfernung autoreaktiver Zellen, in der Abtötung infizierter Zellen und in der Herunterregulierung der Immunantwort, sobald eine Infektion überstanden ist [141]. Insgesamt ist TRAIL also in die Immunüberwachung, insbesondere bei malignen Prozessen und Infektionskrankheiten, verwickelt [2,41,43].

Da bei bakteriellen Infektionen die Integrin-verwandte Signalkaskade überwiegt, wird TRAIL hier vermindert exprimiert, was in einer bidirektionalen Kinetik zwischen den beiden infektiologischen Entitäten resultiert [56,104,144,157,236].

Weitere Anwendbarkeit zeigte TRAIL z. B. bei septischen Patient\*innen, für die niedrige Werte mit einem erhöhten Mortalitäts-Risiko assoziiert waren [207].

### 5.3.2 IP-10

IP-10, auch C-X-C motif Chemokin Ligand 10 (CXCL 10) genannt, ist ein Polypeptid und gehört zur Familie der Chemokine. Chemokine fungieren als Signalproteine während der Immunantwort und in Entzündungsprozessen. Sie bewirken die Chemoattraktion/-taxis von Immunzellen (Leukozyten) und erhöhen die kapillare Permeabilität. Sie ermöglichen den Immunzellen somit zur infizierten bzw. entzündeten Lokalisation zu gelangen [31].

Nach Kontakt mit antigenpräsentierenden Zellen produzieren T-Lymphozyten Interferon- $\gamma$ . Dies zählt zu den Typ-II-Interferonen und ist ein wichtiger Aktivator der zellulären Immunantwort. Interferon- $\gamma$  stimuliert insbesondere Monozyten, aber auch weitere Immunzellen sowie Endothel- und Bindegewebszellen zur Bildung von IP-10 [15,119]. IP-10 aktiviert den CXCR3-Rezeptor auf Leukozyten, was dessen Chemoattraktion und -taxis bewirkt. Betroffene Leukozyten sind insbesondere T-Lymphozyten, Natürliche Killerzellen, Monozyten sowie basophile und eosinophile Granulozyten [15,160]. Weitere proinflammatorische und proliferatorische Effekte bewirkt IP-10 durch die Hochregulierung von co-stimulatorischen Molekülen (z. B. Interleukin (IL)-8 und CXCL5) [55,105].

IP-10 ist somit an der Bereitstellung von Leukozyten für die lokale Immunreaktion beteiligt. Es wird bei Infektionen synthetisiert, wobei dies bei viraler Ätiologie verstärkt der Fall ist [144]. Mögliche Begründungen sind, dass Interferone vermehrt bei Kontakt mit Viren gebildet werden und IP-10 so gut wie keinen Effekt auf neutrophile Granulozyten zu bewirken scheint [160], welche für die Bekämpfung bakterieller Infektionen wichtig sind.

In vergangenen Studien wurde demonstriert, dass IP-10 ein möglicher Marker für die Steuerung von Entzündung und Steroid-Therapie bei COVID-19-Patient\*innen ist [106].

### 5.3.3 CRP

CRP gehört zur Gruppe der Akute-Phase-Proteine. Es handelt sich dabei um Plasmaproteine, welche bei Entzündungen und Gewebeschädigungen stark vermehrt im Blut auftreten. Sie gelten als Teil der unspezifischen, angeborenen Immunreaktion.

Nach Stimulation durch IL-6 wird CRP in der Leber gebildet. Es kann charakteristische Muster, insbesondere Phosphocholin, erkennen und binden (pattern recognition molecule). Phosphocholin ist in der Zellwand vieler Bakterien zu finden. Zudem wird es nach Schädigung oder Apoptose aus der Zellmembran menschlicher Zellen freigesetzt. Nach Bindung an Phosphocholin interagiert CRP direkt mit dem Komplementfaktor C1

und aktiviert somit auf klassischem Wege das Komplementsystem, dessen Ziel die Abtötung von Pathogenen ist. Dies geschieht entweder direkt durch die Bildung eines lytischen Membranangriffskomplexes oder indirekt, indem durch Freisetzung weiterer Mediatoren oder Opsonierung andere Teile der Immunabwehr aktiviert werden. Zusätzlich kann CRP zur Phagozytose befähigte Zellen direkt aktivieren und Antikörper-Rezeptoren (FcγR) binden. Dies resultiert in einer Sekretion von Zytokinen und einer Induktion weiterer inflammatorischer Prozesse [11,187,215].

CRP ist also als Teil der unspezifischen Immunabwehr direkt an der Bekämpfung von Infektionen beteiligt. Aufgrund der Bindung an Phosphocholin sind CRP-Level bei bakteriellen Infektionen stark erhöht. Sie steigen allerdings auch in viralen Infektionen an, vermutlich ausgelöst durch Zellschädigungen [11,144].

Die Messung von CRP wird in vielen Krankenhäusern bereits routinemäßig durchgeführt, um inflammatorische Prozesse zu detektieren. Die Spezifität ist allerdings gering, da erhöhte Werte im Rahmen von Infektionen, aber auch von malignen und autoimmunen Prozessen sowie postoperativ, parainfektös oder nach Traumata auftreten können [187,215].

## 5.4 Ziele der Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit ist die Evaluierung der Biomarker TRAIL, IP-10 und CRP für verschiedene Einsatzgebiete in der infektiologischen Diagnostik. Dafür wird die DIRECTOR-Studie herangezogen, in der die Anwendung der Marker bei COVID-19 erforscht wurde.

Folgende Fragestellungen werden gezielt bearbeitet:

1. Wie unterscheidet sich die Expression von TRAIL, IP-10 und CRP zwischen COVID-19-Patient\*innen und gesunden Proband\*innen bzw. Proband\*innen mit anderen akuten Atemwegsinfektionen? Ist eine Unterscheidung zwischen diesen Gruppen mit Hilfe der drei Biomarker möglich? Sind es somit gute Biomarker für die Stellung der *COVID-19-Diagnose*?
2. Korrelieren die gemessenen Werte von TRAIL, IP-10 und CRP mit dem Schweregrad von COVID-19? Lässt sich der klinische Verlauf anhand der anfänglich und im Verlauf gemessenen Werte nachvollziehen? Sind die Biomarker somit geeignet für die *Überwachung des Krankheitsverlaufs*?
3. Kann anhand frühzeitig gemessener Werte von TRAIL, IP-10 und CRP der klinische Verlauf von COVID-19 antizipiert werden? Besitzen die drei Biomarker somit eine Vorhersagekraft und können in der *Abschätzung der Prognose* eingesetzt werden?
4. Besteht ein Bezug zwischen den Biomarkern TRAIL, IP-10 und CRP mit zeitnah gemessenen Ct-Werten der RT-qPCR-Testungen auf SARS-CoV-2? Lässt sich somit mittels der Messwerte eine *Abschätzung der Infektiosität* von COVID-19-Patient\*innen vornehmen?
5. Lässt sich die unterschiedliche Expression von TRAIL, IP-10 und CRP in den zuvor genannten Szenarien (1-4) mechanistisch anhand vorbeschriebener Literatur erklären?
6. Wie lassen sich die gewonnenen Erkenntnisse auf die allgemeine infektiologische Diagnostik anwenden? Wie lässt sich anhand aktueller Erkenntnisse der zukünftige Nutzen von Biomarkern bewerten?

## 6 Material und Methodik

### 6.1 Studiendesign und Kollektiv

Die DIRECTOR-Studie (Dynamics of the immune response to COVID-19 / infection by SARS-coronavirus-2) war eine prospektive, beobachtende Kohortenstudie, die am Universitätsklinikum des Saarlandes in Homburg/Saar unter Mitwirken verschiedener Fachrichtungen durchgeführt wurde [65,202,203].

Teilnehmende Patient\*innen wurden während der zweiten und dritten Welle der COVID-19-Pandemie (Dezember 2020 bis Juli 2021) rekrutiert. Als Einschlusskriterien galten eine RT-qPCR-bestätigte Infektion mit SARS-CoV-2 und eine nach mündlicher Aufklärung unterschriebene Einwilligungserklärung. In Einzelfällen wurde die Einwilligung gesetzlich Vertretender eingeholt. Des Weiteren mussten Teilnehmende älter als drei Monate sein, wobei die Ergebnisse der unter 18-Jährigen gesondert analysiert wurden [65] und nicht Teil dieser Arbeit sind.

Zusätzlich wurden retrospektiv COVID-19-Patient\*innen eingeschlossen, die während der ersten Pandemiewelle (März bis Mai 2020) innerhalb einer Probephase Messungen der Biomarker am Universitätsklinikum erhielten. Es galten dieselben Einschlusskriterien.

In die Studie wurden Proband\*innen für die Bildung von Kontrollgruppen einbezogen. Es bedurfte für die Teilnahme eines negativen SARS-CoV-2 RT-qPCR-Tests und ebenfalls einer unterschriebenen Einwilligungserklärung.

Vor Studienbeginn lag ein positives Votum der Ethik-Kommission der Ärztekammer des Saarlandes vor (Referenznummer 019/20). Außerdem war die Studie unter [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov) registriert (NCT04655521).

## **6.2 Studienverfahren**

### **6.2.1 Rekrutierung**

Für die RT-qPCR-Testung auf SARS-CoV-2 wurden routinemäßig tiefe Nasopharyngealabstriche in der Notaufnahme durchgeführt. Patient\*innen mit positivem Testergebnis oder initialem Verdacht auf COVID-19 (klinische Symptomatik und positiver Antigen-Schnelltest) wurden in einem Aufklärungsgespräch ausführlich über die DIRECTOR-Studie informiert und erhielten die Möglichkeit zur Teilnahme. Im Zuge dessen wurde die Einwilligungserklärung unterschrieben.

Des Weiteren wurden Patient\*innen berücksichtigt, die sich während ihres Krankenhausaufenthalts mit SARS-CoV-2 infizierten und somit in der regelmäßigen, klinikweiten RT-qPCR-Testung auffielen. Sie wurden daraufhin auf die Infektionsstation verlegt, ebenfalls über die Studie aufgeklärt und nach erfolgter Einwilligung in die Studie eingeschlossen.

Die Kontrollgruppen setzten sich hauptsächlich aus Mitarbeitenden zusammen. Sie wurden in der internen Abstrichambulanz rekrutiert, wo Mitarbeitende routinemäßig oder aufgrund eines Krankheitsverdachts einen RT-qPCR-Test auf SARS-CoV-2 erhielten.

Bei Rekrutierung wurde den teilnehmenden COVID-19-Patient\*innen sowie Proband\*innen der Kontrollgruppen eine fortlaufende Identifikationsnummer zugeteilt, um eine Pseudonymisierung sicherzustellen.

### **6.2.2 Prozedere**

Tiefe Nasopharyngealabstriche, RT-qPCR-Tests auf SARS-CoV-2 und Blutentnahmen wurden bei COVID-19-Patient\*innen regelmäßig im Rahmen der Routineversorgung durchgeführt. Für die Messungen der Biomarker wurde ein extra Serumröhrchen abgenommen. Die Messungen wurden aus logistischen Gründen im Zentrallabor und SARS-CoV-2-RT-qPCR-Tests im Institut für Virologie durchgeführt. Alle Patient\*innen wurden nach dem aktuell gültigen medizinischen Versorgungsstandard der Klinik versorgt.

Proband\*innen der Kontrollgruppen erhielten lediglich eine Blutentnahme zum Zeitpunkt der Rekrutierung in der internen Abstrichambulanz. Vermerkt wurde das jeweilige Alter und Geschlecht der Teilnehmenden. Außerdem wurde das Vorhandensein von Krankheitssymptomen erfragt.

### 6.2.3 Datenerhebung

Nach Entlassung wurden die COVID-19-Patient\*innen-bezogenen Daten aus den einzelnen Krankenakten systematisch erhoben. Die Daten wurden nur unter Verwendung der zuvor zugeteilten Identifikationsnummern in elektronischen Erhebungsbögen (engl. Electronic case report form, eCRF) gespeichert.

Zu den erhobenen Daten gehörten:

- Anamnese: Exposition, Vorerkrankungen, Medikation, aktuelle Beschwerden
- Alter, Geschlecht, Größe, Gewicht
- Vitalzeichen: Temperatur, Blutdruck, Herzfrequenz, Atemfrequenz, transkutane Sauerstoffsättigung
- Laborwerte, Blutgasanalysen
- Befunde der Mikrobiologie, Virologie (inklusive Ct-Werte), Radiologie
- Verordnete Medikation, durchgeführte Maßnahmen
- Dauer der Hospitalisierung, ggf. Dauer der Intensivbehandlung, Beatmungsdauer, Mortalität

Für COVID-19-Patient\*innen, die über die Notaufnahme vorstellig wurden, wurde der „National Early Warning Score“ (NEWS) bei Aufnahme generiert. Dieser wurde als Hilfsmittel für die klinische Einschätzung und Standardisierung akut kranker Patient\*innen vom Londoner Royal College of Physicians entwickelt. Im NEWS-Score sind jeweils Normbereiche für Vitalparameter und den Bewusstseinszustand definiert, während Abweichungen je nach Ausmaß mit Punkten bewertet und aufaddiert werden (Tabelle 2) [168].

Für die Bewertung des Bewusstseinszustands wird das AVPU-Schema genutzt. Dabei werden wache Patient\*innen (alert, A) von Patient\*innen, die nur auf laute Ansprache (verbal response, V), auf einen Schmerzreiz (painful stimuli, P) oder gar nicht (unresponsive, U) reagieren, abgegrenzt.

Idealerweise sollte der NEWS-Score in Form eines Frühwarnsystems mit einem Maßnahmenkatalog verbunden sein. Ein Wert von  $\geq 5$  ist als mittleres Risiko definiert und sollte eine Therapieeskalation sowie eine regelmäßige Überwachung nach sich ziehen [168].



**Tabelle 2:** Der NEWS-Score: Übersicht und Bewertung, in Anlehnung an [168]

Parameter	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3
Atemfrequenz [1/min]	≤ 8		9-11	12-20		21-24	≥ 25
Sauerstoffsättigung [%]	≤ 91	92-93	94-95	≥ 96			
Sauerstoffgabe		Ja		Nein			
Temperatur [°C]	≤ 35,0		35,1-36,0	36,1-38,0	38,1-39,0	≥ 39,1	
Systolischer Blutdruck [mmHg]	≤ 90	91-100	101-110	111-219			≥ 220
Herzfrequenz [1/min]	≤ 40		41-50	51-90	91-110	111-130	≥ 131
Bewusstseinszustand				A			V, P, U

#### 6.2.4 Gruppenzuordnung und Subanalysen

Gemäß der möglichen Einsatzgebiete der Biomarker wurden COVID-19-Patient\*innen und Proband\*innen der Kontrollgruppen unterschiedlichen Gruppen zugeordnet und Subanalysen erstellt. Die Einsatzgebiete betreffen die Stellung der COVID-19-Diagnose, die Überwachung des Krankheitsverlaufs, sowie die Abschätzung von Prognose und Infektiosität.

##### COVID-19-Diagnose

Biomarker-Messwerte aller COVID-19-Patient\*innen wurden mit zwei Kontrollgruppen verglichen. Kontrollgruppe 1 (KG 1) bestand aus gesunden Erwachsenen, während Kontrollgruppe 2 (KG 2) Erwachsene mit Symptomen einer anderen akuten Atemwegsinfektion umfasste. Patient\*innen, bei denen sich der initiale Verdacht auf COVID-19 nicht durch einen positiven RT-qPCR-Test bestätigen ließ, wurden nachträglich der KG 2 zugewiesen.

##### Überwachung des Krankheitsverlaufs

COVID-19-Patient\*innen wurden abhängig von ihrem individuellen Krankheitsausmaß Gruppen zugeordnet. Dabei dienten die Leitlinien der WHO zur therapeutischen Versorgung COVID-19-Erkrankter als Orientierung, in denen die drei Schweregrade „nicht schwer“, „schwer“ und „kritisch“ benannt werden [225]. Nach folgenden Gesichtspunkten erfolgte die Aufteilung:

- „nicht schwer“: Keines der Folgenden trifft zu
- „schwer“: Sauerstoffsättigung im Verlauf  $< 90\%$  bei Raumluft und/oder die Angabe von Luftnot als führendes Krankheitssymptom
- „kritisch“: Implementierung einer maschinellen Beatmung oder der Einsatz von Vasopressoren notwendig

Weitere Parameter für die Einschätzung des Schweregrads waren die Dauer des Krankenhausaufenthalts und der Versorgung auf der ITS, sowie das Versterben auf der ITS. Andere mögliche Einflussvariablen wurden betrachtet. Zudem wurde eine Untergruppe mit COVID-19-Patient\*innen, die auf der ITS verstarben und eine Untergruppe mit Patient\*innen, die synthetische Glukokortikoide erhielten, gebildet.

### Abschätzung der Prognose

Da eine Abschätzung der Prognose umso wertvoller ist, je früher sie erfolgt, wurde eine Subgruppe mit COVID-19-Patient\*innen erstellt, deren erste Biomarker-Messung innerhalb der ersten 24 Stunden nach Krankenhausaufnahme erfolgte. Die Messungen wurden mit dem am selben Tag in der Notaufnahme erhobenen NEWS-Score gepaart.

### Abschätzung der Infektiosität

Für eine weitere Subanalyse wurden von allen COVID-19-Patient\*innen verfügbare Ct-Werte der SARS-CoV-2-RT-qPCRs gesammelt und mit Biomarker-Messwerten gepaart, sofern diese am selben Tag oder am Tag zuvor gemessen wurden. In die Subanalyse wurden nur diese Paare einbezogen. Aufgrund der Datenlage [140] und deutscher Quarantänebestimmungen wurden Ct-Werte von  $\leq 30$  als „infektiös“ und Werte  $> 30$  als „nicht-infektiös“ gewertet.

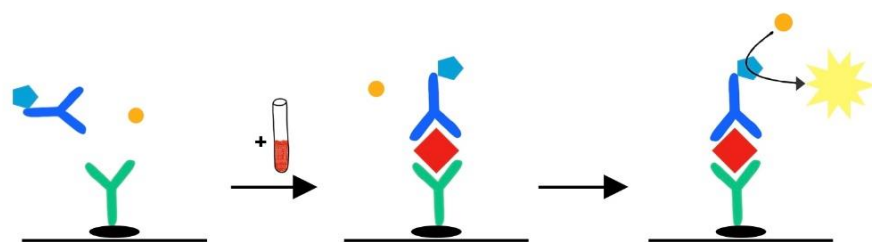
## 6.3 Labormethoden

### 6.3.1 Grundlagen der Messungen

Die Biomarker TRAIL, IP-10 und CRP wurden mittels eines MeMed Keys™ gemessen. Es handelt sich dabei um eine vollautomatisierte Point-of-Care-Testplattform, deren Messprinzip auf der gleichzeitigen Durchführung drei verschiedener chemilumineszenter Immunoassays (CLIA) beruht (ImmunoXpert™, Abbildung 7). Bei einem solchen Immunoassay sind für das zu messende Antigen spezifische Fangantikörper über Partikel auf einer Mikroplatte gebunden. Nach Zugabe des Probematerials kommt es zu einer Antigen-Antikörper-Reaktion mit Komplexbildung. Entstandene Komplexe werden über eine eigene Bindungsstelle am Antigen durch einen zweiten Antikörper, den Detektionsantikörper, gebunden. Somit entstehen Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplexe. Der Detektionsantikörper ist mit einem Enzym konjugiert. Das passende Substrat ist ein lumineszentes Molekül, bei dessen Umsetzung elektromagnetische Strahlung im Bereich des ultravioletten bis sichtbaren Lichts (Wellenlänge  $\lambda=300-800$  nm) ausgesendet wird. Diese Energie entsteht, wenn ein Elektron vom angeregten Zustand in den Ruhezustand übergeht. Die Menge der emittierten Strahlung wird gemessen. Sie ist proportional zur ausgänglichen Antigenmenge der Probe, was eine direkte Quantifizierung ermöglicht [39,40].

#### Legende

- Partikel
- Y Fangantikörper
- Enzym
- Y Detektionsantikörper
- Substrat
- ◆ Antigen
- ☀ emittiertes Licht



**Abbildung 7:** Vereinfachtes Prinzip eines Chemilumineszenten Immunoassays, erstellt mit Apple Pages, in Anlehnung an [39,40]

### 6.3.2 Durchführung der Messungen

Zunächst wurden die Serumproben im Zentrallabor mit 4 000 Umdrehungen pro Minute für 20 Minuten bei 20 °C zentrifugiert (Rotixa 50 RS Zentrifuge). Das Zeitlimit für diesen Schritt betrug zwei Stunden. Anschließend wurde innerhalb der nächsten Stunde der Test durchgeführt. Falls dies nicht möglich war, wurden die Proben vorübergehend bei -20 °C eingefroren.

Die Testplattform bestand aus einem MeMed Key™-Analysator und Einweg-Testkassetten (Abbildung 8).



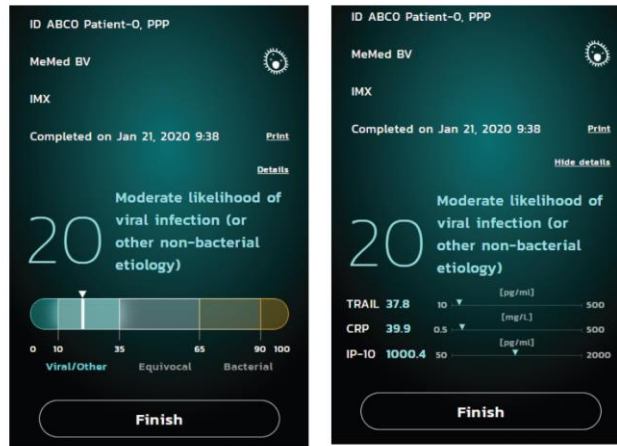
**Abbildung 8:** MeMed Key™-Analysator und Testkassette, aus MeMed Key™ Instructions for Use

Bei der Testkassette handelte es sich um einen Einweg-Kunststoffbehälter, welcher versiegelt war und mehrere Kammern enthielt. Folgende Reagenzien waren enthalten (jeweils ca. 1 ml):

- Puffer auf Salzbasis
- Puffer auf Proteinbasis
- Gepuffertes Surfactant (bzw. Tensid)
- Mit monoklonalen Antikörpern überzogene Partikel (anti-TRAIL, anti-IP-10, anti-CRP)
- Mit Detektionsenzymen konjugierte Antikörper (anti-TRAIL, anti-IP-10, anti-CRP)
- Substratlösung

Für die Durchführung der Messungen meldete sich der Benutzer bzw. die Benutzerin am Analysator an, welcher über einen Touchscreen gesteuert wurde. Anschließend wurde die Probenidentifikationsnummer eingegeben. Von der Serumfraktion wurden 100 µl in die Probenöffnung der Testkassette pipettiert (rot umrandete Öffnung). Der QR-Code der Testkassette wurde gescannt und die Testkassette in den Analysator eingesetzt.

Auf dem Touchscreen wurde nun die zu erwartende Laufzeit der Messung von circa 15 Minuten angezeigt. Nach der erfolgreichen Durchführung des Tests wurden die Ergebnisse für TRAIL, IP-10 und CRP sowie der errechnete Score (MeMed BV™) auf dem Bildschirm angezeigt (Abbildung 9).



**Abbildung 9:** Beispieldarstellung der Messergebnisse auf dem Bildschirm des MeMed Key™-Analysators, aus MeMed Key™ Instructions for Use

Anschließend wurden die Ergebnisse in die Patient\*innenakte überführt. Die Testkassetten wurden nach Laborvorgaben entsorgt.

### 6.3.3 Interpretation der Ergebnisse

Die Serumlevel der drei Biomarker wurden in den folgenden Einheiten gemessen: TRAIL und IP-10 in pg/ml, CRP in mg/l. Die Limitierungen der Proteinquantifizierung waren für TRAIL auf 15-300 pg/ml, für IP-10 auf 100-6 000 pg/ml und für CRP auf 1-250 mg/l festgesetzt. Falls die Messergebnisse außerhalb der Bereiche lagen, wurden sie im Analysator mittels „Kleiner-/Größer-als Zeichen“ dargestellt. Für die Auswertung wurde in diesem Fall die nächste angrenzende ganze Zahl ausgewählt. Bei einem Messergebnis von < 15 pg/ml TRAIL wurde also der Wert 14 pg/ml notiert.

Für alle COVID-19-Patient\*innen wurden initiale Biomarker-Messungen, maximale bzw. minimale Werte während des Krankenhausaufenthalts und intraindividuelle Schwankungen betrachtet. Maximale Messwerte wurden zudem mit folgenden Grenzwerten betrachtet:  $\leq 30$  pg/ml TRAIL,  $\leq 3000$  pg/ml IP-10 und  $\leq 30$  mg/l CRP. Der MeMed BV™ Score, welcher computergestützt aus den gemessenen Werten für TRAIL, IP-10 und CRP errechnet wird, wurde für die Unterscheidung zwischen einer bakteriellen und viralen infektiologischen Ätiologie entwickelt. Er wurde in dieser Arbeit nicht gesondert analysiert.

## 6.4 Statistische Methoden

Für qualitative Variablen wurden absolute und relative Häufigkeiten berechnet. Quantitative Variablen wurden als Median mit Interquartilsabstand (engl. interquartile range, IQR) oder als Mittelwert mit Standardabweichung (s) betrachtet.

Gruppenvergleiche wurden mittels Mann-Whitney-U-Test für stetige Variablen und  $\chi^2$ -Test für kategoriale Variablen durchgeführt. Falls mehr als 2 Gruppen verglichen wurden, wurde der Kruskal-Wallis-Test verwendet und paarweise Vergleiche nach Bonferroni korrigiert.

Durch Spearman-Korrelation wurden Zusammenhänge zwischen stetigen Variablen untersucht und mittels Korrelationskoeffizienten (r) aufgezeigt.

Zusätzlich wurden logistische Regressionsanalysen durchgeführt. Zunächst wurden dafür univariable Modelle berechnet, dessen Ergebnisse per Chancenverhältnis (engl. Odds Ratio, OR) dargestellt wurden. Anschließend wurden alle Variablen mit signifikanten Ergebnissen in der univariablen Analyse in multivariable, logistische Regressionsanalysen einbezogen. Dessen Ergebnisse wurden durch das adjustierte Odds Ratio (aOR) verkörpert. 95 %-Konfidenzintervalle (KI) wurden berechnet.

Überlebenszeitanalysen wurden durchgeführt, um den zeitlichen Faktor zu berücksichtigen. Sie wurden anhand von Kaplan-Meier-Kurven dargestellt und Gruppen mittels Log-Rank-Test verglichen.

Für die Einschätzung von Vorhersagekräften unter Einbezug aller Grenzwerte wurden Receiver Operating Characteristics (ROC)-Kurven generiert und diese durch Berechnung der darunterliegenden Flächen (area under the curve, AUC) verglichen.

Alle Analysen wurden mit GraphPad Prism (Version 9.0.0), SPSS (Version 28.0) und R Studio (Version 1.3.1093) durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde auf 0,05 festgesetzt.

### 6.4.1 Darstellung der Ergebnisse

Die grafische Darstellung der Ergebnisse erfolgte durch Tabellen, Boxplots, Kaplan-Meier-Schätzer, ROC-Kurven, Streu-, Balken- und Liniendiagramme. Folgende Grade der Signifikanz wurden angegeben: nicht signifikant (ns;  $p > 0,05$ ), signifikant (\*;  $0,01 < p \leq 0,05$ ), sehr signifikant (\*\*;  $0,001 < p \leq 0,01$ ) und höchst signifikant (\*\*\*;  $p \leq 0,001$ ).

Gemäß der unterschiedlichen Einsatzgebiete von Biomarkern wurden Ergebnisse nach COVID-19-Diagnose, Überwachung des Krankheitsverlaufs und Abschätzung von Prognose sowie Infektiosität gegliedert.

## 7 Ergebnisse

### 7.1 Deskriptive Analyse

Während des Studienzeitraums wurden 172 infrage kommende COVID-19-Patient\*innen zur Teilnahme an der DIRECTOR-Studie befragt. 30 von ihnen lehnten die Teilnahme ab und 10 Patient\*innen konnten aufgrund von Fehlern in der Biomarker-Messung nicht berücksichtigt werden. Insgesamt ergab sich daraus eine Studienpopulation von 132 Patient\*innen.

Aufgrund ihres klinischen Verlaufs wurden 39 Patient\*innen (29,5 %) in die Gruppe „nicht schweres“, 62 (47 %) in die Gruppe „schweres“ und 31 Patient\*innen (23,5 %) in die Gruppe „kritisches“ COVID-19 eingeteilt.

#### 7.1.1 Patient\*innencharakteristika

Eine genaue Auflistung der einzelnen Patient\*innencharakteristika zeigt Tabelle 3.

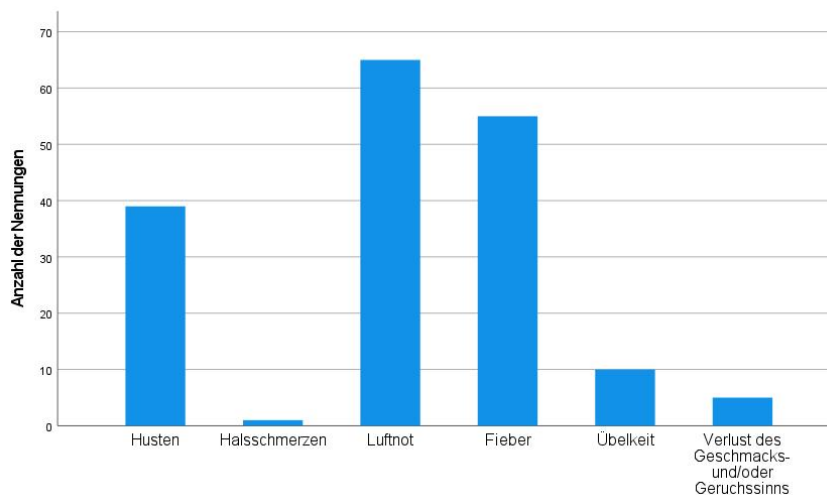
**Tabelle 3:** Charakteristika der COVID-19-Patient\*innen, adaptiert nach [202]

	<b>Nicht schwer (n=39)</b>	<b>Schwer (n=62)</b>	<b>Kritisch (n=31)</b>	<b>Gesamt (n=132)</b>
<b>Allgemein</b>				
Mittleres Alter, Jahre (min-max)	60 (23-93)	67 (28-98)	63 (46-87)	64 (23-98)
weiblich (n, %)	20 (51,3)	28 (45,2)	5 (16,1)	53 (40,2)
Raucher*innen (n, %)	0 (0,0)	2 (3,2)	0 (0,0)	2 (1,5)
Ehemals Raucher*innen (n, %)	3 (7,7)	3 (4,8)	3 (9,7)	9 (6,8)
<b>Vorerkrankungen (n, %)</b>				
Diabetes mellitus	12 (30,8)	14 (22,6)	6 (19,4)	32 (24,2)
Arterielle Hypertonie	15 (38,5)	29 (46,8)	15 (48,4)	59 (44,7)
Kardiovaskuläre Herzkrankheit	10 (25,6)	26 (42)	4 (12,9)	40 (30,3)
Chronische Lungenerkrankung	6 (15,4)	7 (11,3)	2 (6,5)	15 (11,4)
Chronische Nierenerkrankung	4 (10,3)	11 (17,7)	5 (16,1)	20 (15,2)
Malignom	4 (10,3)	8 (12,9)	1 (3,2)	13 (9,8)
Transplantat	6 (15,4)	1 (1,6)	3 (9,7)	10 (7,6)
Adipositas	2 (5,1)	5 (8,1)	17 (54,8)	24 (18,2)

Insgesamt betrug das mittlere Alter aller COVID-19-Patient\*innen 64 Jahre, mit einer Spannweite von 23-98 Jahre. 40,2 % (n=53) der Teilnehmenden waren weiblich, wobei nur 5 Frauen der Gruppe „kritisch“ zugeteilt wurden (16,1 %). Als häufigste Vorerkrankung lag eine arterielle Hypertonie vor (n=59; 44,7 %). 13 Patient\*innen (9,8 %) litten unter einer aktiven Krebserkrankung und 10 Patient\*innen (7,6 %) erhielten in der Vergangenheit ein Spenderorgan. 18,2 % der Studienpopulation (n=24) waren adipös, wobei der Großteil (n=17) der Gruppe „kritisch“ zugeordnet wurde.

### 7.1.2 Krankheitsverlauf

Bei Krankenhausaufnahme gaben 109 der teilnehmenden COVID-19-Patient\*innen (82,6 %) an, unter COVID-19-typischen Symptomen zu leiden. 65 davon litten unter Luftnot, 55 hatten Fieber und nur 1 Patient\*in erwähnte Halsschmerzen (Abbildung 10).



**Abbildung 10:** Balkendiagramm der von COVID-19-Patient\*innen genannten Symptome. Mehrfachnennungen waren möglich.

Im Mittel verbrachten die Patient\*innen 21,5 Tage (s=24,8) im Krankenhaus, wobei Patient\*innen der Gruppe „nicht schwer“ nur 14 (s=8) und Patient\*innen der Gruppe „kritisch“ 42 Tage (s=40) dort verweilten. Nur ein Patient verblieb in ambulanter Versorgung. Insgesamt wurden 47 Patient\*innen (35,6 %) auf die ITS verlegt, wo sie im Mittel 7,49 Tage (s=22,6) überwacht wurden. 29 Patient\*innen der Gruppe „kritisch“ (93,5 %) benötigten eine maschinelle Beatmung und ihre mittlere Beatmungsdauer betrug 24 Tage (s=24). Aus der Studienpopulation verstarben 21 Patient\*innen (15,9 %), wobei nur 13 der Verstorbenen zuvor auf die ITS verlegt wurden und nur 10 von ihnen aufgrund aller klinischer Daten der Gruppe „kritisches“ COVID-19 zugeteilt wurden.



Zusätzliche Erreger wurden bei 57 der Patient\*innen nachgewiesen, wobei es sich bei 47 Patient\*innen um einen Bakterien- und bei 10 um einen Pilznachweis handelte. Dabei fanden sich 7 dieser Pilznachweise bei Patient\*innen der Gruppe „kritisches“ COVID-19 und 3 mal handelte es sich um Schimmelpilze in Atemwegsmaterialien.

Im klinischen Verlauf erhielten 75 % der Kohorte (n=99) eine antibiotische Therapie. Remdesivir wurde bei 16 Patient\*innen verabreicht (12,1 %) und synthetische Glukokortikoide (Prednison/-olon, Dexamethason) wurden bei 38 (28,8 %) eingesetzt. 5 Patient\*innen (3,8 %) benötigten Vasopressoren und 10 (7,6 %) eine ECMO. Alle Details zum klinischen Verlauf der teilnehmenden COVID-19-Patient\*innen sind in Tabelle 4 dargestellt.

**Tabelle 4:** Details zum klinischen Verlauf der COVID-19-Patient\*innen, adaptiert nach [202]

	<b>Nicht schwer</b> (n=39)	<b>Schwer</b> (n=62)	<b>Kritisch</b> (n=31)	<b>Alle</b> (n=132)
<b>Krankenhausaufenthalt</b>				
Symptome bei Aufnahme (n, %)	29 (55,6)	52 (83,9)	28 (90,3)	109 (82,6)
Krankenhaustage (Mittel, s)	14 (8,0)	16 (14,0)	42 (40,0)	21,48 (24,8)
Aufnahme auf ITS (n, %)	4 (10,3)	12 (19,4)	31 (100)	47 (35,6)
Tage auf ITS (Mittel, s)	0 (2,0)	1 (2,0)	30 (39)	7,49 (22,6)
Maschinelle Beatmung (n, %)	0 (0,0)	0 (0,0)	29 (93,5)	29 (22,0)
Tage am Beatmungsgerät (Mittel, s)	0 (0,0)	0 (0)	24 (24)	5,74 (15,4)
Verstorben (n, %)	2 (5,1)	9 (14,5)	10 (32,3)	21 (15,9)
<b>Zusätzlicher Erregernachweis</b> (n, %)				
Nachweis von Bakterien	14 (35,9)	16 (41,0)	17 (54,8)	47 (35,6)
Nachweis von Pilzen	2 (5,1)	1 (1,6)	7 (22,6)	10 (7,6)
<b>Behandlung (n, %)</b>				
Remdesivir	2 (5,1)	13 (21,0)	1 (3,2)	16 (12,1)
Prednison/-olon	7 (17,9)	4 (6,5)	4 (12,9)	15 (11,4)
Dexamethason	9 (23,1)	12 (6,5)	2 (6,5)	23 (17,4)
Antibiotika	27 (69,2)	44 (71,0)	28 (90,3)	99 (75,0)
Vasopressoren	0 (0,0)	0 (0,0)	5 (16,1)	5 (3,8)
Dialyse	1 (2,6)	4 (6,5)	14 (45,2)	19 (14,4)
ECMO	0 (0,0)	0 (0,0)	10 (32,3)	10 (7,6)

### 7.1.3 Weiteres

Insgesamt wurden 899 Messungen der Biomarker TRAIL, IP-10 und CRP bei teilnehmenden COVID-19-Patient\*innen durchgeführt. Dies resultierte in einer Anzahl von 6,8 Messungen pro Patient\*in. Die erste Messung fand im Mittel 4,5 Tage ( $s=6,5$ ) nach Krankenhausaufnahme statt. Minimale Werte für TRAIL traten im Mittel 8,08 Tage ( $s=8,17$ ) nach Aufnahme ins Krankenhaus auf, während sich maximale Werte für IP-10 nach 6,86 ( $s=8,84$ ) und für CRP nach 6,87 ( $s=7,65$ ) Tagen fanden.

KG 1 bestand aus 19 gesunden Proband\*innen mit einem mittleren Alter von 49 Jahren (Spannweite 23-76). Von ihnen waren 12 (63,2 %) weiblich.

Die KG 2 umfasste 8 Proband\*innen mit Symptomen einer akuten Atemwegsinfektion. Ihr mittleres Alter betrug 43 Jahre (22-83) und 87,5 % ( $n=7$ ) waren weiblich. Folgende Symptome wurden genannt: Husten  $n=3$ , Halsschmerzen  $n=4$ , Fieber  $n=1$ , Andere  $n=5$ . Mehrfachnennungen waren möglich.

Die Subgruppe der COVID-19-Patient\*innen mit ersten Biomarker-Messungen innerhalb der ersten 24 Stunden nach Krankenhausaufnahme umfasste 58 Patient\*innen, von denen 53,4 % ( $n=31$ ) weiblich waren. 33 von ihnen (56,9 %) erlitten einen „schweren“ und 5 (8,6 %) einen „kritischen“ Krankheitsverlauf. 2 (3,4 %) verstarben auf der ITS.

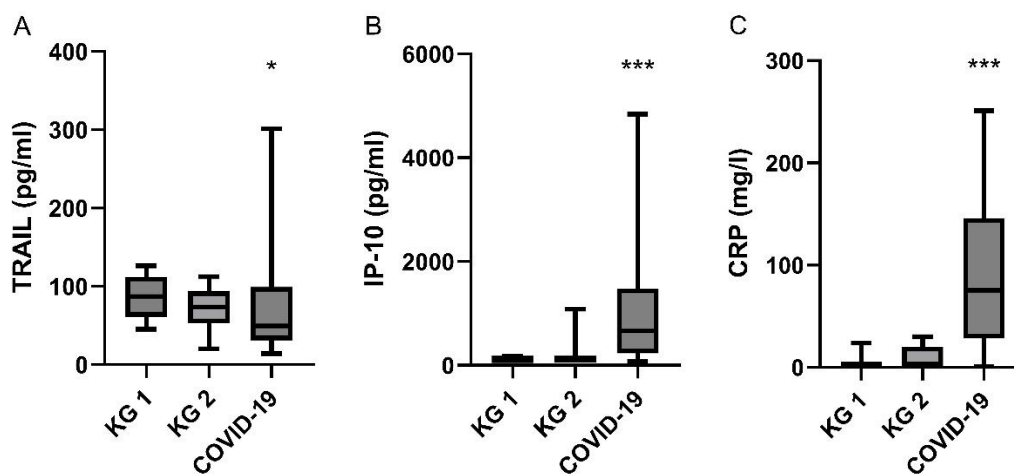
Für 123 COVID-19-Patient\*innen waren Ct-Werte von insgesamt 436 RT-qPCR-Testungen auf SARS-CoV-2 verfügbar (im Mittel 3,54 pro Patient\*in). Die ersten Ct-Werte lagen dabei 2,65 Tage ( $s=7,69$ ) nach Krankenhausaufnahme vor. Im Mittel betrug sie 24,67 ( $s=6,07$ ), während der minimale Wert bei 14 und der maximale Wert bei 39 lag.

## 7.2 COVID-19-Diagnose

COVID-19-Patient\*innen erreichten in ihren ersten Messungen ein medianes TRAIL von 49,5 pg/ml (IQR 68,25), Proband\*innen der KG 1 ein medianes TRAIL von 87 pg/ml (IQR 51) und die der KG 2 ein medianes TRAIL von 73,5 pg/ml (IQR 41). Mit einem p-Wert von 0,041 waren die Unterschiede im Mehrgruppenvergleich signifikant (Abbildung 11A). Der Vergleich von IP-10 Leveln zwischen den genannten Gruppen ergab ebenfalls einen signifikanten Unterschied im Mehrgruppenvergleich ( $p < 0,001$ ). Bei COVID-19-Patient\*innen fand sich hier ein medianes IP-10 von 667,5 pg/ml (IQR 1252,3) und in der KG 1 ein medianes IP-10 von 127 pg/ml (IQR 40) (Abbildung 11B).

Die Betrachtung von initial gemessenen CRP-Werten ergab für COVID-19-Patient\*innen einen medianen Wert von 75,3 mg/l (IQR 117,4), für Proband\*innen der KG 1 einen medianen Wert von 1,6 mg/l (IQR 4,4) und für Proband\*innen der KG 2 ein medianes CRP von 1,05 mg/l (IQR 19,45). Der im Mehrgruppenvergleich errechnete p-Wert von  $< 0,001$  zeigte einen signifikanten Unterschied an (Abbildung 11C).

Bei keinem der drei Biomarker konnte ein signifikantes Ergebnis im paarweisen Vergleich der Messwerte von KG 1 und KG 2 erzielt werden.



**Abbildung 11:** Differenzielle Expression der Biomarker zwischen Proband\*innen der Kontrollgruppen und ersten Messungen der COVID-19-Patient\*innen, adaptiert nach [202]

Die univariate, logistische Regressionsanalyse mit dem Endpunkt (engl. Outcome) eines positiven RT-qPCR Tests auf SARS-CoV-2, in die alle Patient\*innen und Proband\*innen einbezogen wurden, lieferte ein signifikantes Odds Ratio für IP-10 (OR 1,007;  $p=0,001$ ) und CRP (OR 1,144;  $p<0,001$ ). Im multivariablen Modell verblieb CRP als signifikant (aOR 1,112;  $p<0,001$ ; Nagelkerkes  $R^2$  0,703).

## 7.3 Überwachung des Krankheitsverlaufs

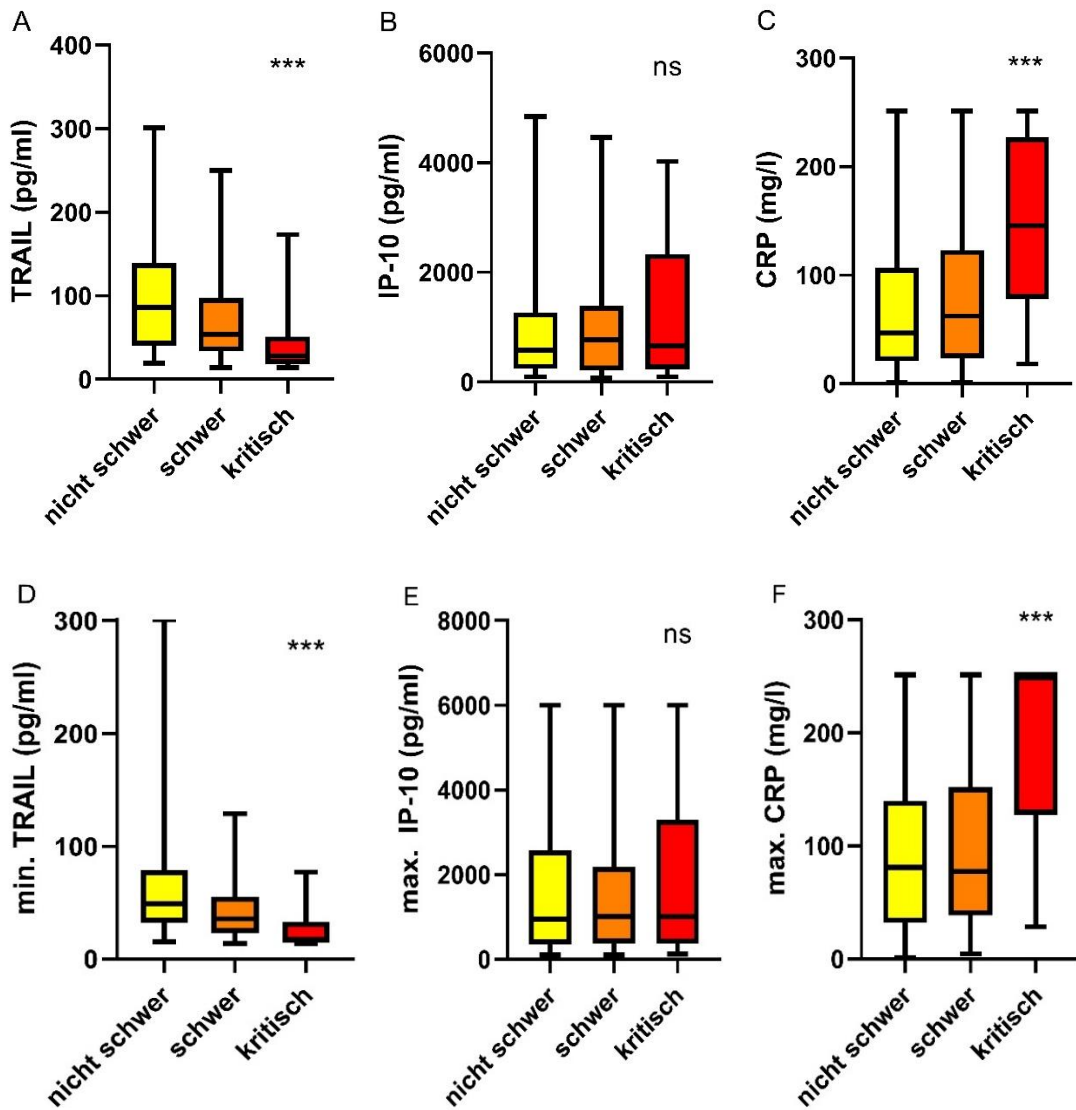
### 7.3.1 Vergleich des COVID-19-Schweregrads

Bei der Betrachtung der ersten TRAIL-Messwerte von COVID-19-Patient\*innen ergaben sich sowohl im Mehrgruppenvergleich ( $p < 0,001$ ), als auch im direkten, paarweisen Vergleich zwischen „schwerem“ und „kritischem“ COVID-19 nach Bonferroni-Korrektur ( $p=0,005$ ) signifikante Unterschiede. Dabei war der Median der Gruppe „kritisch“ mit 28 pg/ml (IQR 32,8) weitaus geringer als der der beiden anderen Gruppen („nicht schwer“: 86 pg/ml, IQR 99; „schwer“: 54 pg/ml, IQR 63,45) (Abbildung 12A). Minimale TRAIL-Werte während des Krankenhausaufenthalts zeigten ebenfalls keine signifikante Abstufung zwischen den ersten beiden Schweregraden ( $p=0,288$ ), jedoch im Mehrgruppen- ( $p < 0,001$ ) und direktem Vergleich zwischen „schwerem“ (Median 35,5 pg/ml, IQR 32,25) und „kritischem“ COVID-19 (Median 17 pg/ml, IQR 18,  $p < 0,001$ ) (Abbildung 12D).

Weder initial gemessene, noch maximale IP-10 Werte zeigten in den genannten Vergleichen signifikante Ergebnisse. Die Mediane der drei Gruppen lagen initial zwischen 584-773,5 pg/ml und maximal zwischen 945-1013 pg/ml (Abbildung 12B und E).

Für die initial gemessenen CRP-Werte ergab sich in der Gruppe „kritisches“ COVID-19 ein Median von 145,5 mg/l (IQR 149) und geringere Werte für die beiden anderen Gruppen („nicht schwer“: 46,8 mg/l, IQR 85,7; „schwer“: 62,4 mg/l, IQR 99,8). In allen drei Gruppen war jedoch der maximale Messwert von 251 mg/l vertreten. Signifikante Ergebnisse wiesen der Mehrgruppenvergleich ( $p < 0,001$ ), ebenso wie der direkte Vergleich zwischen „schwerem“ und „kritischem“ COVID-19 auf ( $p < 0,001$ ) (Abbildung 12C). Mit Blick auf maximale CRP-Werte ließen sich gleiche Ergebnisse in den beschriebenen Vergleichen feststellen ( $p < 0,001$ ). In der Gruppe „kritisches“ COVID-19 war der Median bereits der höchstmögliche Wert von 251 mg/l (IQR 123,3), während dieser bei „schwerem“ Verlauf bei 77,3 mg/l (IQR 113,55) lag (Abbildung 12F).

Des Weiteren korrelierten initial gemessene TRAIL-Werte negativ und CRP-Werte positiv mit der Dauer des Krankenhaus- ( $r = -0,2532$ ;  $p = 0,0034$  bzw.  $r = 0,3107$ ;  $p < 0,001$ ) und ITS-Aufenthalts ( $r = -0,6264$ ;  $p < 0,001$  bzw.  $r = 0,5687$ ;  $p < 0,001$ ) von COVID-19-Patient\*innen. Für gemessenes IP-10 konnten keine signifikanten Korrelationen gezeigt werden.



**Abbildung 12:** Differenzielle Expression der ersten (A-C) und minimalen/maximalen (D-F) Biomarker-Messungen von COVID-19-Patient\*innen in Abhängigkeit vom COVID-19-Schweregrad

### 7.3.2 Einflussfaktoren auf den COVID-19-Schweregrad

Mit der folgenden logistischen Regressionsanalyse wurde untersucht, inwiefern Faktoren (unabhängige Variablen) die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von (A) „kritischem“ COVID-19 und (B) Tod auf der ITS in der beschriebenen Studienkohorte beeinflussten. Ausführliche Ergebnisse sind in Tabelle 5 dargestellt.

Männliche Patienten hatten ein 4,709-fach ( $p=0,003$ ) und adipöse Patient\*innen ein 16,306-fach ( $p < 0,001$ ) höheres Risiko einen kritischen Krankheitsverlauf zu erleiden. Erhöhte Werte für CRP, IL-6, Laktatdehydrogenase (LDH), D-Dimere, Ferritin und der Leukozytenzahl waren mit einer leicht erhöhten Wahrscheinlichkeit für einen kritischen Verlauf vergesellschaftet (OR 1,001-1,160). Eine 73,3 % geringere Chance auf diesen Verlauf wiesen Patient\*innen mit einer Kardiovaskulären Herzkrankheit auf (OR 0,267;  $p=0,022$ ). Weitere protektive Effekte waren erhöhten initialen TRAIL-Werten zuzuschreiben (OR 0,982;  $p=0,004$ ). Minimale und maximale Messwerte der Biomarker wurden für diesen klinischen Endpunkt nicht berücksichtigt, da sie nicht zwingend vor dessen Eintreten vorlagen.

Im multivariablen Modell verblieben für das Erleiden eines „kritischen“ Verlaufs lediglich das Vorliegen von Adipositas mit einem 40,766-fach erhöhten Risiko (95 %-KI 9,006-184,520;  $p < 0,001$ ) und erhöhte Ferritin-Werte (aOR 1,001; 95 %-KI 1,000-1,001;  $p=0,001$ ) als signifikante Einflussvariablen (Nagelkerkes  $R^2$  0,506). Sie stellten somit unabhängige Risikofaktoren dar.

Mit Blick auf den klinischen Endpunkt „Tod auf der ITS“ ließ sich als einziges klinisches Merkmal mit einem erhöhten Auftretensrisiko das Vorliegen von Adipositas (OR 6,027;  $p=0,002$ ) beobachten. Zudem war eine niedrige Lymphozytenzahl, erhöhte D-Dimere, sowie ein erhöhter Wert für IP-10 (OR 1,001;  $p < 0,001$ ) und CRP (1,013;  $p < 0,001$ ) mit dem Auftreten des Ereignisses assoziiert. Das gleiche galt für die minimalen bzw. maximalen Messwerte der Biomarker TRAIL, IP-10 und CRP.

Unabhängige Risikofaktoren für das Versterben auf der ITS stellten in der multivariablen Analyse eine niedrige Lymphozytenzahl (aOR 0,997; 95 %-KI 0,994-1,000;  $p=0,028$ ) und ein hohes maximales CRP (aOR 1,02; 95 %-KI 1,006-1,033;  $p=0,003$ ) dar (Nagelkerkes  $R^2$  0,474).

Initiale TRAIL-Werte korrelierten nicht mit der simultan gemessenen Lymphozytenzahl ( $r=0,1$ ;  $p=0,285$ ).

## Ergebnisse

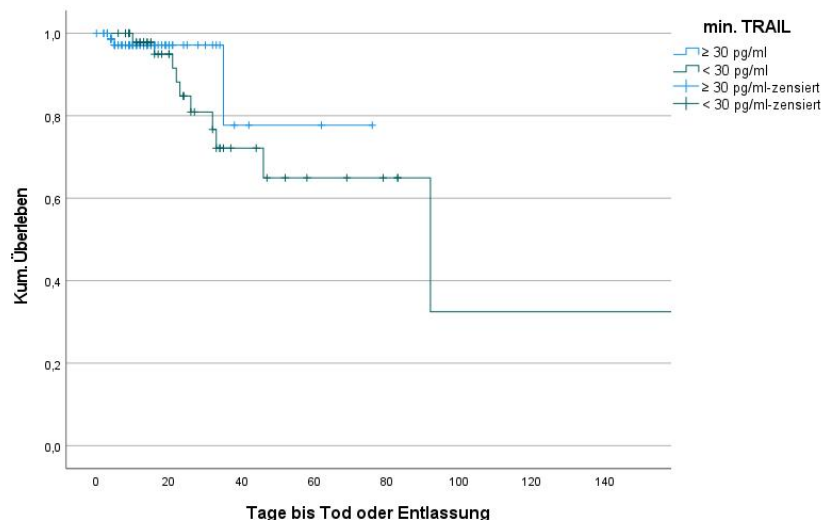
**Tabelle 5:** Ergebnisse der univariaten, logistischen Regressionsanalyse für die abhängige Variable (A) „kritisches“ COVID-19 und (B) Tod auf ITS. Bei den Laborwerten wurde, sofern nicht anders beschrieben, die erste Messung berücksichtigt. Signifikante Ergebnisse sind fettgedruckt hervorgehoben.

Unabhängige Variable	(A) „kritisches“ COVID-19		(B) Tod auf ITS	
	OR (95 %-KI)	p-Wert	OR (95 %-KI)	p-Wert
Männliches Geschlecht	<b>4,709</b> (1,675-13,240)	<b>0,003</b>	2,189 (0,570-8,403)	0,254
Alter [Jahre]	0,996 (0,970-1,023)	0,781	1,027 (0,985-1,070)	0,207
Adipositas	<b>16,306</b> (5,740-46,320)	<b>&lt;0,001</b>	<b>6,927</b> (2,061-23,282)	<b>0,002</b>
Diabetes mellitus	0,692 (0,256-1,875)	0,469	0,491 (0,103-2,345)	0,373
Arterielle Hypertonie	1,214 (0,542-2,721)	0,637	2,261 (0,695-7,354)	0,175
Kardiovaskuläre Herzkrankheit	<b>0,267</b> (0,087-0,825)	<b>0,022</b>	2,116 (0,660-6,785)	0,207
Chronische Lungenerkrankung	0,467 (0,099-2,192)	0,334	0,688 (0,082-5,763)	0,730
Chronische Nierenerkrankung	1,103 (0,366-3,323)	0,862	1,781 (0,442-7,185)	0,417
Malignom Transplantat	0,247 (0,031-1,982)	0,188	1,073 (0,123-9,332)	0,949
Ferritin [mg/dl]	1,439 (0,349-5,933)	0,615	0,944 (0,110-8,115)	0,958
Ferritin [mg/dl]	<b>1,001</b> (1,000-1,001)	<b>0,001</b>	1,000 (1,000-1,001)	0,075
IL-6 [pg/ml]	<b>1,009</b> (1,004-1,013)	<b>&lt;0,001</b>	1,000 (0,999-1,001)	0,911
Leukozytenzahl [10 <sup>3</sup> /μl]	<b>1,119</b> (1,034-1,210)	<b>0,005</b>	0,945 (0,806-1,106)	0,480
Lymphozytenzahl [1/μl]	1,000 (0,999-1,000)	0,520	<b>0,997</b> (0,995-0,999)	<b>0,002</b>
LDH [U/l]	<b>1,004</b> (1,001-1,006)	<b>0,003</b>	1,002 (0,998-1,005)	0,355
D-Dimere [mg/dl]	<b>1,160</b> (1,044-1,290)	<b>0,006</b>	<b>1,111</b> (1,022-1,208)	<b>0,014</b>
Procalcitonin [ng/ml]	1,257 (0,941-1,679)	0,122	0,998 (0,965-1,031)	0,889
TRAIL [pg/ml]	<b>0,982</b> (0,970-0,994)	<b>0,004</b>	0,989 (0,974-1,004)	0,156
IP-10 [pg/ml]	1,000 (1,000-1,001)	0,366	<b>1,001</b> (1,000-1,001)	<b>&lt;0,001</b>
CRP [mg/l]	<b>1,013</b> (1,007-1,019)	<b>&lt;0,001</b>	<b>1,013</b> (1,005-1,021)	<b>&lt;0,001</b>
Min. TRAIL [pg/ml]			<b>0,958</b> (0,992-0,997)	<b>0,033</b>
Max. IP-10 [pg/ml]			<b>1,001</b> (1,000-1,001)	<b>&lt;0,001</b>
Max. CRP [mg/l]			<b>1,024</b> (1,012-1,038)	<b>&lt;0,001</b>

### 7.3.3 Überlebenszeitanalysen

Folgend wurden teilnehmende COVID-19-Patient\*innen abhängig von ihren minimalen bzw. maximalen Biomarker-Messwerten während des gesamten Krankenhausaufenthalts mit entsprechenden Grenzwerten aufgeteilt.

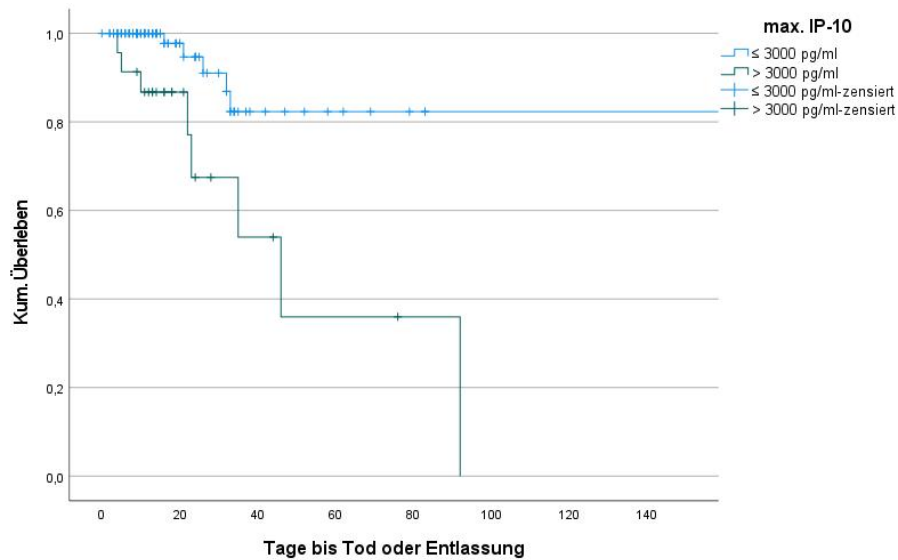
Bei 54 der Patient\*innen (40,9 %) lag der minimale TRAIL-Wert bei  $< 30$  pg/ml. Von ihnen verstarben 10 im Beobachtungszeitraum auf der ITS (Überlebensrate 81,5 %). In der Gruppe mit minimalen Werten  $\geq 30$  pg/ml verstarben demgegenüber nur 3 Patient\*innen auf der ITS (Überlebensrate 96,2 %). Abbildung 13 zeigt dies in Abhängigkeit der Zeit. Bei zensierten Patient\*innen ist das Ereignis nicht eingetreten, sie wurden also aus dem Krankenhaus entlassen. In der Gruppe mit minimalem TRAIL  $< 30$  pg/ml ergibt sich eine mediane Überlebenszeit von 92 Tagen (Standardfehler 33,395) und ein Kaplan-Meier-Schätzer von 0,325 (Standardfehler 0,235) an diesem Tag. Der Schätzer beschreibt das kumulative Überleben, also die Wahrscheinlichkeit, dass das Ereignis bei Versuchsobjekten innerhalb des Zeitintervalls nicht eintritt. In der Gruppe mit minimalem Wert  $\geq 30$  pg/ml beträgt dieser an Tag 35 0,777 (Standardfehler 0,174). Mit dem Log-Rank-Test konnte sich jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen aufzeigen lassen ( $\chi^2$  0,7;  $p=0,402$ ).



**Abbildung 13:** Kaplan-Meier-Kurve von COVID-19-Patient\*innen in Abhängigkeit des minimalen TRAIL-Werts (Grenzwert 30 pg/ml) mit Endpunkt Tod auf ITS (Maximum bei 150 Tagen).

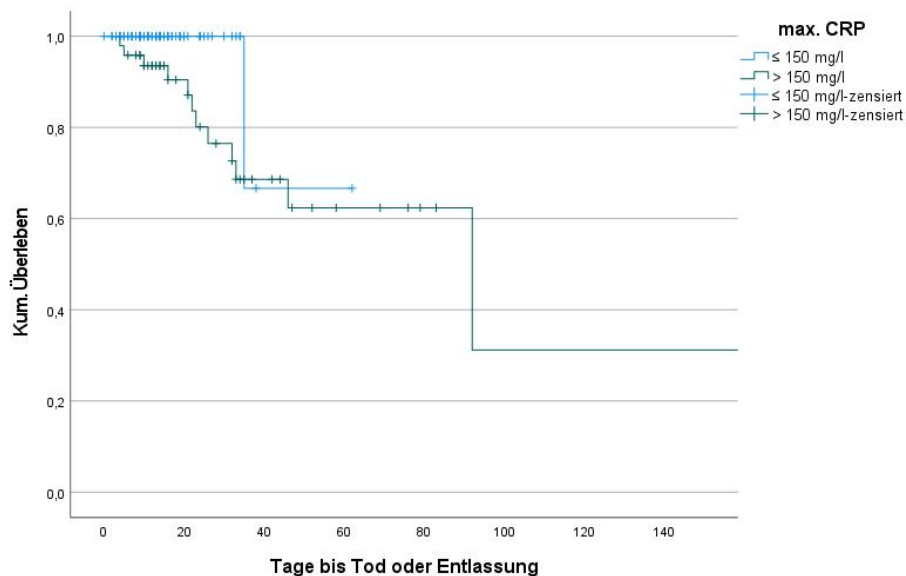
Maximale IP-10 Werte lagen bei 23 COVID-19-Patient\*innen (17,4 %)  $> 3000$  pg/ml. In dieser Gruppe verstarben 8 auf der ITS (Überlebensrate 65,2 %, mediane Überlebenszeit 46 Tage, Standardfehler 13,297), während nur 5 Patient\*innen mit geringeren maximalen Werten dort verstarben (Überlebensrate 95,4 %). Dies wurde in Abhängigkeit der Zeit dargestellt (Abbildung 14) und ergab zudem einen signifikanten Gruppenunterschied im Log-Rank-Test ( $\chi^2$  10,5;  $p=0,001$ ).





**Abbildung 14:** Kaplan-Meier-Kurve von COVID-19-Patient\*innen in Abhängigkeit des maximalen IP-10-Werts (Grenzwert 3 000 pg/ml) mit Endpunkt Tod auf ITS (Maximum bei 150 Tagen). Adaptiert nach [202]

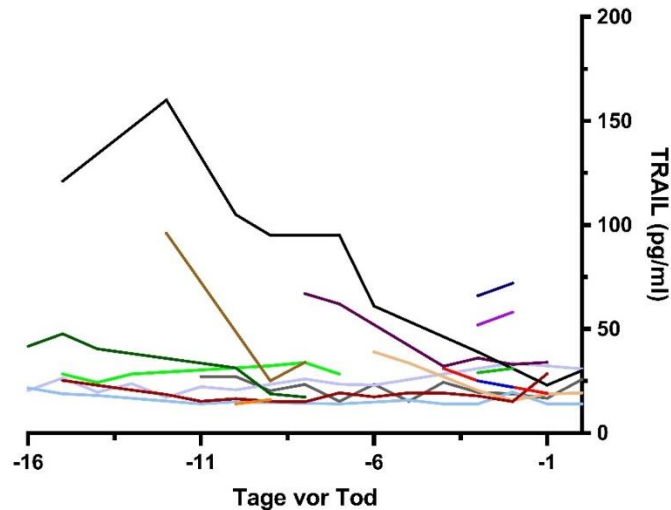
Ebenfalls signifikante Unterschiede in der Überlebenszeitanalyse ließen sich bei Betrachtung maximaler CRP-Werte beobachten ( $\chi^2$  4,74;  $p=0,029$ ), wobei COVID-19-Patient\*innen nach Werten von  $> 150$  mg/l ( $n=48$ ) bzw.  $\leq 150$  mg/l ( $n=84$ ) eingeteilt wurden. 12 der 13 auf ITS verstorbenen Patient\*innen (92,3 %) gehörten der Gruppe mit hohen maximalen CRP-Werten an (mediane Überlebenszeit 92 Tage, Standardfehler 33,379). In dieser Gruppe lag der Kaplan-Meier-Schätzer an Tag 92 bei 0,312 (Standardfehler 0,226), während dieser bei Patient\*innen mit maximalem CRP  $\leq 150$  mg/l an Tag 82 bei 0,667 (Standardfehler 0,272) lag (Abbildung 15).



**Abbildung 15:** Kaplan-Meier-Kurve von COVID-19-Patient\*innen in Abhängigkeit des maximalen CRP-Werts (Grenzwert 150 pg/ml) mit Endpunkt Tod auf ITS (Maximum bei 150 Tagen).

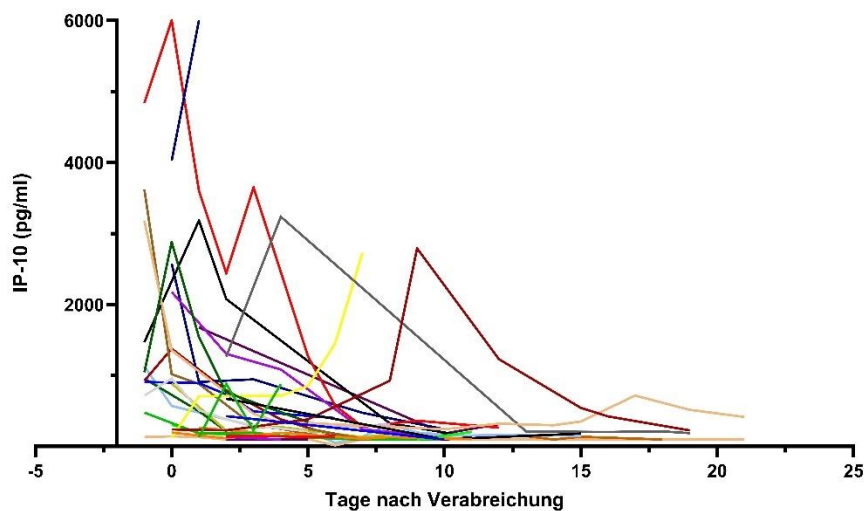
### 7.3.4 Intraindividuelle Schwankungen

Auch wenn in der Überlebenszeitanalyse kein signifikanter Gruppenunterschied in der Betrachtung von TRAIL-Werten gezeigt werden konnte, ist es nennenswert, dass die Werte bei allen auf der ITS-verstorbenen COVID-19-Patient\*innen während ihrer letzten Lebenstage abfielen (Abbildung 16). Spätestens zwei Tage vor dem Tod lagen diese bei  $< 40$  pg/ml. Die Patient\*innen, die am Todestag noch eine Messung erhielten, zeigten TRAIL-Werte von  $< 30$  pg/ml.



**Abbildung 16:** Die Dynamik von TRAIL-Werten bei auf der ITS verstorbenen COVID-19-Patient\*innen kurz vor ihrem Tod. Jede Linie zeigt eine\*n Patient\*in. Adaptiert nach [202]

Erwähnenswert ist zusätzlich, dass IP-10-Werte bei COVID-19-Patient\*innen nach Verabreichung von synthetischen Glukokortikoiden ( $n=16$ ) abfielen (Abbildung 17).

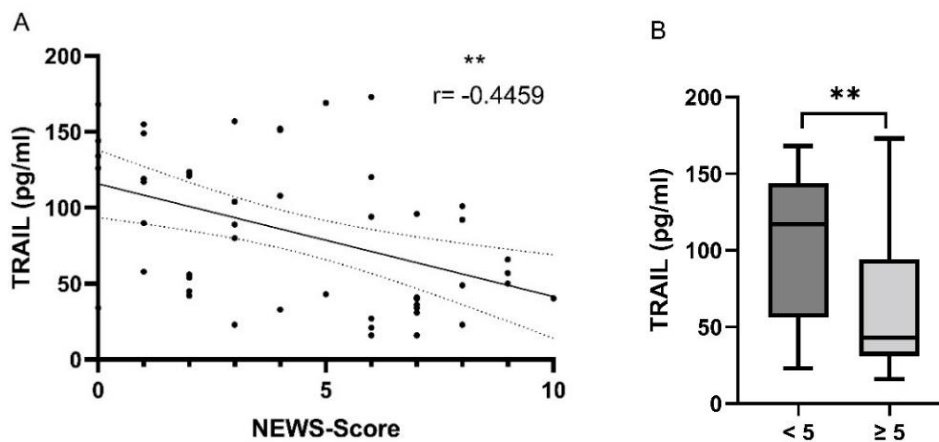


**Abbildung 17:** Die Dynamik von IP-10-Werten nach der Verabreichung von synthetischen Glukokortikoiden. Jede Linie zeigt eine\*n Patient\*in. Adaptiert nach [202]

Diese Beispiele wurden exemplarisch für intraindividuelle Schwankungen ausgewählt.

## 7.4 Abschätzung der Prognose

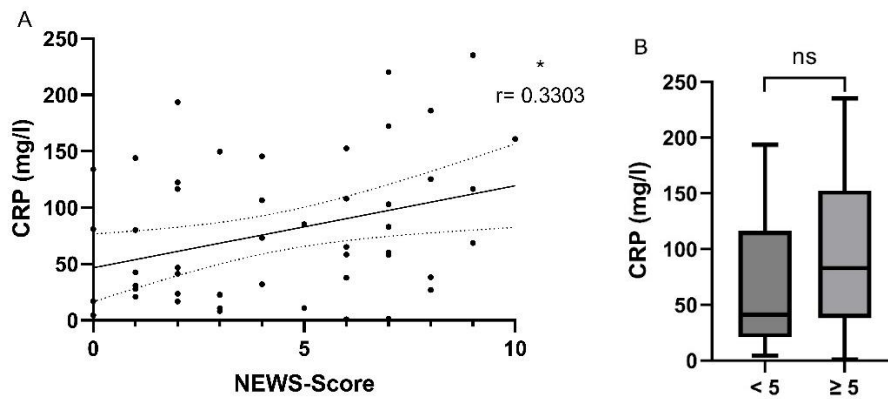
Für 50 Patient\*innen der Subgruppe mit ersten Messungen innerhalb der ersten 24 Stunden nach Krankenhausaufnahme (n=58) konnte aus existierenden Daten der NEWS-Score generiert werden. Gemessene TRAIL-Werte korrelierten invers mit dem erhobenen Score ( $r = -0,4459$ ;  $p = 0,0012$ ) (Abbildung 18A). Patient\*innen mit einem NEWS-Score  $\geq 5$  (n=23) zeigten einen medianen Wert von 43 pg/ml (IQR 63), während dieser in der Gruppe mit niedrigerem Score (n=27) bei 117 pg/ml (IQR 88) lag. Mit einem p-Wert von 0,0027 ergab sich ein signifikanter Unterschied (Abbildung 18B).



**Abbildung 18:** Korrelation (A) zwischen initialem TRAIL-Wert der Subgruppe und NEWS-Score, sowie dessen Gruppenvergleich (B) mit Grenzwert 5. Adaptiert nach [202]

Weder in der Korrelation mit dem NEWS-Score ( $r = 0,1844$ ) noch im Gruppenvergleich ( $p = 0,431$ ) konnten signifikante Ergebnisse bei der Berücksichtigung von initialen IP-10 Werten beobachtet werden.

Demgegenüber zeigten innerhalb der ersten 24 Stunden gemessene CRP-Werte mit einem Korrelationskoeffizient von 0,3303 eine schwache Korrelation mit den erhobenen NEWS-Scores ( $p = 0,0192$ ) (Abbildung 19A). Diese Signifikanz konnte im Gruppenvergleich mit einem NEWS-Score von  $<$  bzw.  $\geq 5$  nicht gezeigt werden ( $p = 0,0914$ ) (Abbildung 19B).



**Abbildung 19:** Korrelation (A) zwischen initialem CRP-Wert der Subgruppe und NEWS-Score, sowie dessen Gruppenvergleich (B) mit Grenzwert 5. Adaptiert nach [202]

Weder in der logistischen Regressionsanalyse der Subgruppe mit klinischem Endpunkt „schweres“/„kritisches“ COVID-19 (n=38), „kritisches“ COVID-19 (n=5), noch „Tod auf ITS“ (n=2) erwies sich einer der initial gemessenen Biomarker als signifikanter Risikofaktor für das Erreichen dieses Endpunkts (Tabelle 6).

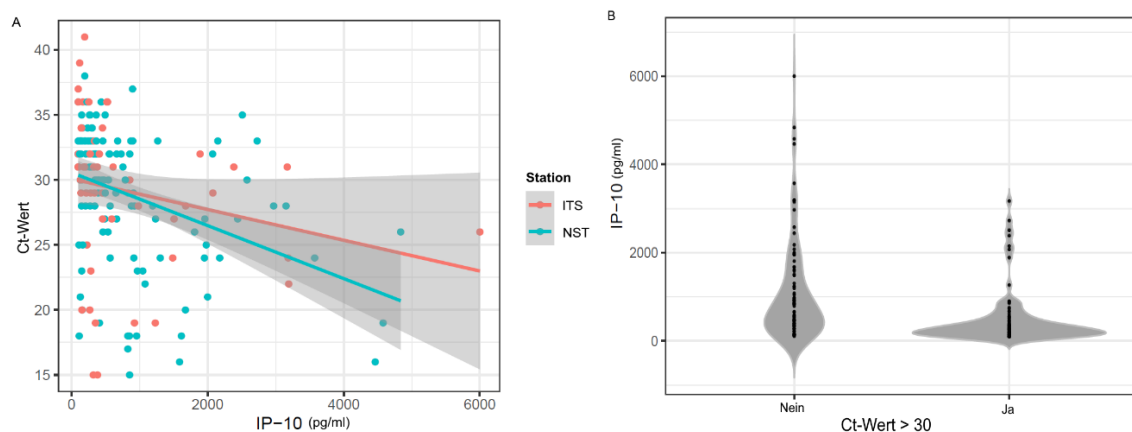
**Tabelle 6:** Ergebnisse der univariablen, logistischen Regressionsanalyse der Subgruppe mit verschiedenen klinischen Endpunkten (A)-(C)

	(A) „schweres/kritisches“ COVID-19		(B) „kritisches“ COVID-19		(C) Tod auf ITS	
	OR	p-Wert	OR	p-Wert	OR	p-Wert
TRAIL [pg/ml]	0,990	0,053	0,998	0,815	1,007	0,533
IP-10 [pg/ml]	1,000	0,955	1,000	0,258	1,001	0,240
CRP [mg/l]	1,003	0,507	1,013	0,060	1,025	0,079

## 7.5 Abschätzung der Infektiosität

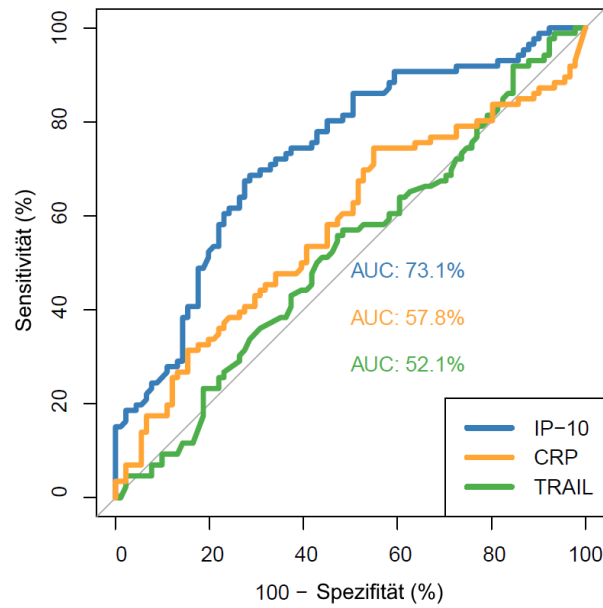
177 der 436 Ct-Werte von COVID-19-Patient\*innen konnten mit Biomarker-Messwerten gepaart werden. Der Mittelwert der Ct-Werte betrug 28,98 ( $s=5,36$ ).

In der Korrelationsanalyse zeigte TRAIL keine signifikante Beziehung zu gepaarten Ct-Werten ( $r=-0,108$ ;  $p=0,153$ ), während sich für IP-10 mit einem Korrelationskoeffizient von  $-0,404$  eine moderate, inverse Beziehung ergab ( $p < 0,001$ ). Diese wurde bei der alleinigen Betrachtung von Paaren, die bei Patient\*innen auf der Normalstation (NST) gemessen wurden ( $n=123$ ), leicht verstärkt ( $r=-0,412$ ;  $p < 0,001$ ; Abbildung 20A). Für Paare von Patient\*innen, die im Krankheitsverlauf auf der ITS betreut wurden ( $n=54$ ), ergaben sich Werte von  $r=-0,408$  bei  $p=0,002$ . Für CRP zeigte sich in der Betrachtung der Paare eine schwache Korrelation ( $r=-0,15$ ;  $p=0,046$ ), die sich bei Betrachtung der NST-Paare ebenfalls leicht verstärkte ( $r=-0,191$ ;  $p=0,034$ ).



**Abbildung 20:** Zusammenhänge zwischen gepaarten CT-Werten und IP-10-Messungen durch (A) eine Korrelationsanalyse aufgeteilt nach Paaren bei COVID-19-Patient\*innen auf der ITS und NST und (B) einem Gruppenvergleich aufgeteilt nach Ct-Werten  $\leq$ / $>$  30. Adaptiert nach [203]

Bei Aufteilung der Messwert-Paare nach einem Ct-Wert von  $\leq 30$  („infektiös“,  $n=91$ ) und  $> 30$  („nicht-infektiös“,  $n=86$ ), zeigten IP-10-Werte mit einem  $p$ -Wert von  $< 0,001$  einen Unterschied im Gruppenvergleich an (Abbildung 20B). Mit einem Median von 663 pg/ml IP-10 (IQR 1166) waren die Messwerte in der „infektiösen“ Gruppe dabei höher als in der „nicht-infektiösen“ Gruppe mit einem Median von 274 pg/ml (IQR 354,6). Für TRAIL ( $p=0,623$ ) und CRP ( $p=0,073$ ) ließen sich hier keine signifikanten Unterschiede feststellen.



**Abbildung 21:** ROC-Kurven und darunterliegende Flächen (AUC) für die Vorhersagekraft der Biomarker TRAIL, IP-10 und CRP auf mögliche SARS-CoV-2-Infektiosität (Ct ≤ 30). Adaptiert nach [203]

Hohe IP-10-Messwerte waren zudem der beste Prädiktor für mögliche SARS-CoV-2-Infektiosität (AUC 73,1 %, Abbildung 21). Dabei erreichte der Grenzwert von 410 pg/ml die beste kombinierte Performanz mit einer Sensitivität von 70,9 % und Spezifität von 67 %. Für eine Sensitivität von 90,7 % bedurfte es einem IP-10-Wert von 904,5 pg/ml, während ein Wert von 148,5 pg/ml IP-10 eine Spezifität von 90,1 % erreichte. Weitere Abstufungen sind in Tabelle 7 aufgeführt. Für die Vorhersage von SARS-CoV-2-Infektiosität ergaben sich für TRAIL (AUC 52,1 %) und CRP (57,8 %) schlechtere Werte.

**Tabelle 7:** Diagnostische Gütekriterien für verschiedene IP-10-Grenzwerte in der Vorhersage von möglicher SARS-CoV-2-Infektiosität (Ct ≤ 30)

IP-10 [pg/ml]	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
3177	100	7,7
904,5	90,7	40,7
564,5	80,2	54,9
410,4	70,9	67
279,0	52,3	80,2
148,5	25,6	90,1
109,3	15,1	100

Sowohl in weiteren Gruppenvergleichen, als auch in Regressions- und Korrelationsanalysen ließen sich keine signifikanten Zusammenhänge zwischen Ct-Werten und dem Schweregrad von COVID-19 feststellen.

## 8 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit sollte die Rolle der Biomarker TRAIL, IP-10 und CRP in der infektiologischen Diagnostik beleuchtet werden. Dazu wurde die DIRECTOR-Studie herangezogen, in der die genannten Biomarker bei 132 COVID-19-Patient\*innen und 27 Proband\*innen der Kontrollgruppen gemessen wurden. Der mögliche Einsatz der Biomarker bei der Stellung der COVID-19-Diagnose, der Überwachung des Krankheitsverlaufs, sowie der Abschätzung von Prognose und Infektiosität wurde evaluiert.

Bei der Betrachtung der Biomarker zur Stellung der *COVID-19-Diagnose*, zeigte sich hier bei COVID-19-Patient\*innen eine unterschiedliche Biomarker-Konstellation im Vergleich zu gesunden Proband\*innen und denen mit anderen akuten Atemwegsinfektionen. TRAIL-Werte waren bei COVID-19-Patient\*innen signifikant niedriger, während der mediane IP-10-Wert um mehr als das Fünffache und der mediane CRP-Wert um mehr als das 47-fache höher war als bei gesunden Proband\*innen.

Lippi et al. evaluierten einen ähnlichen Point-of-Care-Test (FebriDx<sup>®</sup>), der auf CRP und Myxovirus Resistenzprotein A (MxA) basiert und in der Detektion von SARS-CoV-2-Infektion eine Sensitivität und Spezifität von über 90 % erreichte. Die Autor\*innen führten allerdings selbst an, dass die Ergebnisse durch die hohe Vortestwahrscheinlichkeit in der Pandemie beeinflusst wurden [114]. Des Weiteren wurden nur hospitalisierte COVID-19-Fälle betrachtet. In milden bzw. asymptomatischen Fällen wurde über Messwerte berichtet, die die jeweiligen Grenzwerte des Tests ( $\geq 20$  mg/l CRP,  $\geq 40$  ng/ml MxA) nicht erreichten [97,125]. Die Zuverlässigkeit als diagnostisches Instrument ist also fraglich. Stegeman und Kolleg\*innen kamen zu dem Schluss, dass Laborparameter allein nicht für die Diagnosestellung von COVID-19 geeignet sind, da sie nur Rückschlüsse auf den insgesamten Gesundheitszustand zulassen. Eine Unterscheidung zu anderen Infektionen, Entzündungen oder Gewebsschädigungen halten sie für nicht möglich [190]. Darüber hinaus existieren bereits Tests für den direkten Erregernachweis mit hoher diagnostischer Güte [176]. Im direkten Vergleich zu RT-PCR-Tests erzielte der FebriDx<sup>®</sup> jedoch ähnliche Sensitivitäten in der Detektion von SARS-CoV-2-Infektionen, wobei die Kombination beider mit einer Sensitivität von 93,7 % herausstach [16].

Anders als bei den hier vorliegenden Ergebnissen der DIRECTOR-Studie konnte eine Hochregulierung von TRAIL bei anderen viralen Infektionen, nämlich mit dem Influenzavirus und Respiratorischen Synzytial-Virus (RSV), gezeigt werden [17,156]. Allerdings wurde eine erhöhte TRAIL-Expression auch bei SARS-CoV-Infektion gefunden [103,122], jedoch keine Typ-I-Interferon-Expression bei Middle East

Respiratory Syndrome (MERS)-CoV-Infektion [102,244], was aufgrund der Signalkaskade wiederum niedrigere TRAIL-Werte erwarten lässt. Keine der Studien liefert Aussagen zum Schweregrad der Infektionen. Zudem wird TRAIL aus unterschiedlichem Probenmaterial gemessen. Die Coronaviren SARS- und MERS-CoV besitzen eine genetische Homologie von jeweils 80 % und 50 % mit SARS-CoV-2 und weisen unterschiedliche Charakteristiken auf [29,247]. Analog zu den Ergebnissen der vorliegenden Studie konnten erhöhte IP-10-Werte bei SARS-CoV-2-Infektion [80], aber auch bei SARS-CoV- [223], MERS-CoV- [244], Influenzavirus- [233,243], Ebolavirus- [89] und Humanes Immundefizienz-Virus (HIV)-Infektionen [235] festgestellt werden. Ob dies der Diagnosestellung dienen könnte, wurde nicht untersucht. Hohe CRP-Level waren bei Patient\*innen mit SARS-CoV-2-Infektion doppelt so häufig wie bei Infektionen mit RSV und Influenzaviren A oder B [107]. Ein Wert von > 10 mg/l CRP erzielte eine Sensitivität von 76,2 % und eine Spezifität von 95,1 % in der Detektion von pulmonaler Tuberkulose bei HIV-Infizierten [38].

Auch wenn sich COVID-19-Patient\*innen in der vorliegenden DIRECTOR-Studie von Proband\*innen der Kontrollgruppen mittels der Biomarker-Messungen unterscheiden ließen, ist ein Nutzen für die Diagnostik nicht ausreichend bewiesen. Es bedarf einem größeren Vergleich zu anderen akuten Atemwegsinfektionen und auch einer direkten Gegenüberstellung mit etablierten Diagnose-Instrumenten.

Für die mögliche *Überwachung des Krankheitsverlaufs* zeigten Messwerte von TRAIL und CRP in den hier vorgestellten Ergebnissen zwischen den drei COVID-19-Schweregraden „nicht schwer“, „schwer“ und „kritisch“ signifikante Unterschiede. Dabei ließen sich niedrigere TRAIL- und höhere CRP-Werte bei Patient\*innen mit schlimmerem Krankheitsverlauf feststellen. Da dies in initialen, sowie in minimalen bzw. maximalen Messwerten gezeigt werden konnte, lässt sich ein durchgehender Trend vermuten. Darüber hinaus waren hohe Werte von IP-10, ebenso wie die von CRP und ein niedriges TRAIL mit ungünstigen klinischen Endpunkten, wie der Entwicklung von „kritischem“ COVID-19 und dem Versterben auf der ITS, in der univariablen Regressionsanalyse assoziiert. Hohe maximale CRP-Werte stellten einen unabhängigen Risikofaktor für einen ungünstigen Verlauf dar. In der Überlebenszeitanalyse, abhängig von der Ausprägung der minimalen bzw. maximalen Messwerte während des Krankenhausaufenthalts, zeigten erhöhtes IP-10 und CRP signifikante Ergebnisse. Die Diskrepanz der unterschiedlichen Analysen ist auf die große Gewichtung des Zeitfaktors bei Kaplan-Meier-Analysen zurückzuführen.

Die beschriebene Assoziation der drei Biomarker TRAIL, IP-10 und CRP mit dem COVID-19-Schweregrad steht im Einklang mit bislang veröffentlichten Studien. Am Tag 3 des Krankenhausaufenthalts zeigten schwer erkrankte COVID-19-Patient\*innen der



Studienpopulation von Sophonsri et al. signifikant niedrigere TRAIL- und signifikant erhöhte IP-10-Level im Vergleich zu nicht schwer Erkrankten [185]. IP-10 stellte zudem den besten Diskriminator eines schweren COVID-19-Verlaufs in einer anderen Studie dar [74]. Smilowitz und Kolleg\*innen konnten ein 2,59-fach erhöhtes Mortalitätsrisiko bei COVID-19-Patient\*innen mit medianem CRP-Wert von über 108 mg/l zeigen [184] und verschiedenste Arbeitsgruppen bestätigten die Beziehung zwischen CRP und dem COVID-19-Schweregrad [81,115,170,218].

In septischen Patient\*innen waren niedrige TRAIL-Level mit einem erhöhten Mortalitätsrisiko assoziiert [207]. Zudem konnte IP-10 bereits im Jahr 2005 als unabhängiger Risikofaktor bei SARS-CoV-Infektionen detektiert werden [197]. Bei MERS-CoV zeigten erhöhte Werte ebenfalls einen Zusammenhang mit dem Schweregrad [237]. Dem gegenüber konnten Chu et al. zeigen, dass obwohl eine ex-vivo Infektion mit SARS-CoV-2 in Lungengewebe eine effizientere Replikation zeigte als eine Infektion mit SARS-CoV, die Hochregulierung von einer geringeren Anzahl der evaluierten pro-inflammatorischen Zytokinen induziert wurde (5/13 vs. 11/13). Die Bildung von IP-10 wurde in beiden Fällen stimuliert [37]. Des Weiteren konnte in der Vergangenheit eine positive Assoziation der Messwerte zu fortschreitenden HIV-Infektionen gezeigt werden [105] und eine mögliche Rolle in der Diagnostik von pulmonaler Tuberkulose wird diskutiert [161]. Bezüglich der Eignung von CRP zur Einschätzung des Schweregrads ambulant-erworbener Pneumonien kamen Autor\*innen zu unterschiedlichen Ergebnissen: Es zeigte sich eine Korrelation zwischen CRP-Werten und der Länge des Krankenhausaufenthalts [57], während in einer pädiatrischen Kohorte für alle Schweregrade ähnliche Werte gemessen wurden [64].

In der Betrachtung von intraindividuellen Schwankungen der Biomarker-Messwerte in der vorliegenden Studienpopulation zeigten sich TRAIL-Werte kurz vor dem Versterben auf der ITS als fallend und extrem niedrig. Dem gegenüber beobachteten Sophonsri et al. in ihrer Patient\*innenkohorte einen Anstieg der Werte im Verlauf der klinischen Besserung [185]. Hieraus ergibt sich eine Option, finale klinische Verschlechterung zu erkennen und zu überwachen.

Des Weiteren zeigte sich in der vorliegenden Studie ein steiler Abfall der IP-10-Werte innerhalb von zwei Tagen nach Implementierung einer Steroid-Therapie. Die Evaluierung von Sophonsri et al. zeigte zwar auch eine Abnahme der IP-10-Level während des Krankheitsverlaufs, allerdings handelte es sich eher um eine kontinuierliche Abflachung während der ersten sieben stationären Tage, die in schweren COVID-19-Fällen etwas verzögert war [185]. Dies bestätigt die Schlussfolgerung von Lev und Kolleg\*innen, dass eine Hyperinflammation bei COVID-19 mittels IP-10 überwacht und eine dementsprechende Steroid-Therapie gesteuert werden könnte

[106]. In SARS-CoV-Infektionen konnte ebenfalls ein IP-10-Abfall nach Kortikosteroid-Applikation demonstriert werden [223]. Ähnlich konnte ein Nutzen von Biomarkern für die Steuerung der Tocilizumab-Therapie in randomisiert-kontrollierten Studien gezeigt werden. Tocilizumab ist ein monoklonaler Antikörper, der gegen den IL-6-Rezeptor gerichtet ist. Sofern die Therapie bei COVID-19-Patient\*innen mit CRP-Werten von über 75 mg/l und/oder mit hypoxischen Sättigungswerten von < 92 % unter Raumluft initiiert wurde, konnte die Sterblichkeit nach 28 Tagen erheblich gesenkt werden [164]. Bei Patient\*innen mit anfänglich hohen Ferritin-Werten konnte zudem ein besserer Therapieerfolg beobachtet werden [191,208]. Bei sehr niedrigen Ferritin-Werten wirkte sich die Tocilizumab-Therapie hingegen negativ aus [191].

Insgesamt lassen sich die drei Biomarker TRAIL, IP-10 und CRP also als gute Biomarker für die Überwachung des Krankheitsverlaufs von COVID-19 bewerten, dessen Messung klinische Verschlechterung frühzeitig anzeigen kann. Somit wird die rechtzeitige Intensivierung von klinischer Überwachung und Eskalationen des Therapieregimes ermöglicht. Gleichzeitig kann sie ungefährdete Individuen vor invasiven Maßnahmen schützen, die Entscheidung zur Entlassung aus dem Krankenhaus erleichtern und die Verteilung von möglicherweise knappen Ressourcen leiten.

Die Bewertung der Biomarker für die *Abschätzung der Prognose* lässt sich davon nicht gänzlich trennen, da es im weiten Sinne ebenfalls um die Detektion einer klinischen Verschlechterung geht. In dieser Arbeit wurde das prognostische Potenzial vom Messzeitpunkt abhängig gemacht, denn eine Vorhersage des klinischen Verlaufs ist umso wertvoller, je früher diese erfolgt. Aus diesem Grund wurden in die Bewertung nur die Ergebnisse der Subgruppe einbezogen, in der die COVID-19-Patient\*innen innerhalb der ersten 24 Stunden nach Krankenhausaufnahme die erste Messung der Biomarker TRAIL, IP-10 und CRP erhielten.

In der hier vorgestellten Studie konnte für TRAIL und CRP eine Korrelation mit dem NEWS-Score gezeigt werden, welcher anhand von Vitalparametern den klinischen Zustand akut Kranker einschätzt [168]. Akdur et al. konnten demonstrieren, dass ein erhöhter Score mit einer erhöhten Mortalität bei COVID-19 assoziiert war [4]. In anderen Studien wurde ein modifizierter NEWS-Score, in dem das Alter stärker gewichtet wird, mit ähnlichen Ergebnissen bewertet [66,112]. Der Score ist standardisiert und kann innerhalb kürzester Zeit unabhängig der individuellen Expertise erhoben werden. Besonders in Situationen mit hohem Patient\*innenaufkommen und -durchlauf, wie dies in einer Pandemie der Fall ist, stellt er ein gutes Instrument zur Triage dar [66]. Eine Triage ist ein Verfahren zur Priorisierung, welche durch einen Mangel an Ressourcen erforderlich sein kann [36]. Spätestens in der Notaufnahme wird diese gefordert.

Idealerweise sollte eine standardisierte Einschätzung des Gesundheitszustands aber bereits in ambulanten Einrichtungen (Primärversorgung) erfolgen. Schon vor der COVID-19-Pandemie konnte in England gezeigt werden, dass von Allgemeinmediziner\*innen erhobene höhere NEWS-Werte mit einer beschleunigten weiterführenden Versorgung in Krankenhäusern assoziiert waren [174].

Auch wenn hier nur eine schwache Korrelation des Scores zu gemessenen TRAIL- und CRP-Leveln bestand, lässt sich ein potenzieller prognostischer Nutzen ableiten.

Dadurch, dass TRAIL, IP-10 und CRP auf einer vollautomatisierten Point-of-care-Plattform gemessen werden können, eignen sie sich besonders für die Ersteinschätzung in der Notaufnahme. Selbst der Einsatz im ambulanten Sektor ist möglich, zumal sich kürzlich gezeigt hat, dass Messungen auch aus Vollblut und nicht nur aus Serum möglich sind [72]. Entsprechend den ASSURED-Kriterien [10,100] sind die Messungen einfach auszuführen, liefern Ergebnisse in kürzester Zeit und benötigen wenig Ausrüstung. Kosten und Verfügbarkeit sind zum einen abhängig vom Hersteller, allerdings zu einem großen Teil auch von der Nachfrage, da Rentabilität erst ab einer großen Nutzungsmenge erreicht wird [61]. Sensitivität und Spezifität müssen für jeden Gesichtspunkt getrennt betrachtet werden.

In der Studienpopulation von Sophonsri et al. zeigten sich an Tag 1 des Krankenhausaufenthalts für keinen der drei Biomarker signifikante Unterschiede zwischen schwer und nicht schwer erkrankten COVID-19-Patient\*innen [185]. In der hiesigen Regressionsanalyse zeigten sich weder frühzeitig gemessenes TRAIL, noch IP-10 oder CRP als mit dem letztendlichen klinischen Outcome der Patient\*innen assoziiert. Das letztendliche Potenzial der Biomarker als Instrument zur prognostischen Ersteinschätzung bedarf daher weiterer Evaluierung.

Aktuell sind Biomarker als mögliche Prädiktoren von schweren COVID-19-Verläufen Gegenstand zahlreicher Studien. Dabei ist der Übergang von der in dieser Arbeit vorgenommenen Abgrenzung zwischen Biomarkern zur Überwachung des Krankheitsverlaufs und solchen zur Abschätzung der Prognose fließend. In der vorliegenden Studie ließ sich eine Assoziation zum COVID-19-Schweregrad auch für die Laborparameter Ferritin, IL-6, Leukozytenzahl, Lymphozytenzahl, LDH und D-Dimere zeigen. Als unabhängige Risikofaktoren für einen ungünstigen Verlauf erwiesen sich neben den hohen maximalen CRP-Werten auch erhöhte Ferritin-Werte und eine niedrige Lymphozytenzahl. Zahlreiche Einzelstudien kommen zu ähnlichen Ergebnissen. Tabelle 8 gibt einen Überblick über die Ergebnisse großer Metaanalysen, die Biomarker untersuchten, die mit dem Schweregrad von COVID-19 assoziiert sein sollen. Bis auf Procalcitonin waren alle in der DIRECTOR-Studie gemessenen Biomarker im Einklang mit diesen Ergebnissen (farblich hervorgehoben).

**Tabelle 8:** Auswertung der Metaanalysen zu mit dem Schweregrad von COVID-19 assoziierten Biomarkern.

Ergebnis einer PubMed-Suche. Einbezug von Analysen mit mindestens 3 Biomarkern, Kohorten bestehend aus Erwachsenen. Auflistung der am häufigsten genannten Biomarker

Metaanalysen	Kommentar	AST	CRP	D-Dimere	Ferritin	IL-6	Kreatinin	LDH	Leukozyten	Lymphozyten	Procalcitonin	Thrombozyten
Elshazli et al. [52]	*‡		↑	↑		↑			↑	↓	↑	↓
Figliozi et al. [63]	*#		↑	↑						↓	↑	↓
Hariyanto et al. [73]	‡		↑	↑				↑			↑	
Henry et al. [76]	*	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↓	↑	↓
Huang et al. [81]	*#‡		↑	↑	↑						↑	
Ji et al. [87]	*		↑			↑			↑		↑	
Khinda et al. [90]	*†	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↓	↑	↓
Khodeir et al. [91]	#‡	↑	↑	↑		↑	↑	↑		↓		
Li et al. [109]	*#	↑	↑				↑	↑		↓	↑	
Malik et al. [121]		↑	↑	↑			↑	↑		↓	↑	↓
Melo et al. [131]	*	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↓	↑	↓
Tian et al. [206]	#‡	↑	↑	↑		↑	↑	↑	↑	↓	↑	↓
Xie et al. [231]	#†	↑	↑	↑			↑	↑	↑	↓	↑	↓
Zeng et al. [238]	*		↑		↑	↑					↑	
Zhang et al. [242]			↑					↑		↓		
<b>Summe</b>		<b>8</b>	<b>15</b>	<b>11</b>	<b>5</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>10</b>	<b>7</b>	<b>11</b>	<b>13</b>	<b>8</b>

↑/↓ = Erhöhte/Erniedrigte Messwerte mit schwererem COVID-19 assoziiert  
 Freie Felder = Ergebnis nicht signifikant oder Biomarker nicht Teil der Analyse  
 Markierte Felder = Ergebnis im Einklang mit der DIRECTOR-Studie

Kommentare:

\* Getrennte Analysen zu ≥2 Definitionen eines schweren COVID-19-Verlaufs

# Zusätzliche Betrachtung weiterer Einflussvariablen (z. B. Alter, Komorbiditäten, Symptome)

† Angaben zu Zeitpunkten der Messungen

‡ Zusätzliche Betrachtung von Grenzwerten mancher Biomarker

Als Limitation der Metaanalysen wird stets eine große Heterogenität der Einzelstudien genannt. Folgend werden Literaturangaben als Beispiele für die entsprechenden Kritikpunkte an Studien gegeben. Die meisten Ergebnisse wurden durch retrospektive Analysen gewonnen. Dabei werden zahlreiche Parameter evaluiert und die signifikant erhöhten bzw. erniedrigten als gute prädiktive Biomarker bezeichnet. Auf andere mögliche Einflussvariablen wird oft keine Rücksicht genommen und Vergleiche zu Kontrollen sind selten [28,178,239,245]. Des Weiteren werden unterschiedlichste

statistische Methoden und verschiedene klinische Endpunkte für die Analysen verwendet. Diese variieren von der Einschätzung als „schweres“ COVID-19, welches mitunter nicht einheitlich definiert ist [115,195,245], zu Verlegungen auf die ITS [28,202], Eintreten eines respiratorischen Versagens [158,202] oder des Todes [28,108,202,239]. Der Endpunkt Verlegung auf die ITS ist stark abhängig von verfügbaren Ressourcen und lässt keine einheitlichen Rückschlüsse auf den Gesundheitszustand zu. Sofern Grenzwerte einzelner Biomarker-Messungen betrachtet werden, weichen diese zwischen den Studien ab [108,195,239]. Ein weiterer großer Kritikpunkt ist die Variabilität der Zeitpunkte der ersten Messungen. Diese finden wenige Stunden [239] bis mehrere Tage [21] nach Krankenhausaufnahme statt; einzelne Studien geben Tage nach Symptombeginn an [113]. Ein adäquater Vergleich der individuellen Krankheitsstadien der COVID-19-Patient\*innen und dessen Auswirkungen auf die Biomarker-Level ist daher fraglich [204]. Eine longitudinale Betrachtung der Messwerte während des Krankenhausaufenthalts ist nur Gegenstand weniger Studien [106,113,196]. In Tabelle 8 wird in der Kommentarspalte aufgeführt, welche der Metaanalysen die genannten Punkte berücksichtigen bzw. adressieren.

Die meisten Studien betrachten Laborparameter, welche bereits in der Routineversorgung Anwendung finden. Dies spiegelt sich auch in den Ergebnissen der Metaanalysen wieder. Da die Parameter bereits gute Biomarker für andere Prozesse sind, stellt sich die Frage nach Spezifität. Z. B. findet Kreatinin Anwendung in der Abschätzung der Nierenfunktion [99], eine Erhöhung der Transaminasen (z. B. Aspartat-Aminotransferase (AST)) zeigt eine Leberschädigung an [46] und D-Dimere werden als Marker der Gerinnungsaktivierung für den Ausschluss von Lungenembolien herangezogen [44,165]. Da es bei fortgeschrittenem COVID-19 zu Hyperinflammation mit Multiorganbeteiligung kommt, ist eine Erhöhung dieser Parameter naheliegend. Inwiefern andere Einflussvariablen wie Komorbiditäten eine Rolle dabei spielen und somit die Spezifität mindern, ist fraglich. Eine der aufgeführten Metaanalyse kam z. B. zu dem Ergebnis, dass erhöhte Albuminwerte mit schwerem COVID-19 assoziiert sind [76], während andere erniedrigte Werte bei schwerem Verlauf aufzeigten [90,109,231]. Vergleiche von intraindividuellen Schwankungen der Werte vor, während und nach SARS-CoV-2-Infektion könnten Aufschluss geben. Byeon et al. waren in der Lage, bei 24 Patient\*innen pre- und post-COVID-19-Messungen zu vergleichen. Dabei zeigten Werte von IL-6 und TNF einen Anstieg, während Lipidwerte (z. B. Lyso-, Phosphatidylcholine) bei hospitalisierten Patient\*innen sanken [21].

Neben den beschriebenen Parametern der Routineversorgung behandeln einzelne Studien, wie die DIRECTOR-Studie, neue Biomarker. Beispiele sind löslicher Urokinase Plasminogen Aktivator Rezeptor (suPAR) [5,53,143] und Makrophagen-

Chemoattraktorprotein-1 (MCP-1) [33]. Problematisch sind hier Umsetzung und Wirtschaftlichkeit von flächendeckenden Messungen.

Eine weitere Option stellt die Messung mehrerer Biomarker in Form einer Kombination dar. Dies ermöglicht die Ausnutzung mehrerer positiver Aspekte. Singh et al. erstellten in Form einer Metaanalyse eine Gleichung unter Berücksichtigung der gemessenen Werte von CRP, der Leukozyten- und Neutrophilenzahl. Mit dieser konnten Patient\*innen mit schwerem COVID-19-Verlauf mit einer Sensitivität von 68 % und einer Spezifität von 83 % detektiert werden [183]. Zudem stellte sich eine Signatur aus TRAIL, IP-10 und CRP in der Vorhersage der alleinigen Messung von CRP oder IL-6 als überlegen heraus [123]. Diese Signatur wurde in einer multizentrischen Studie unter Einbeziehung von Daten aus der DIRECTOR-Studie weiterentwickelt. Patient\*innen wurden anhand ihrer Signatur in vier Gruppen eingeteilt, wobei für Patient\*innen in der höchsten Gruppe ( $80 < \text{Signatur} \leq 100$ ) die Wahrscheinlichkeit eines schweren Verlaufs von COVID-19 um das 6,4-fache erhöht war [124].

In der Betrachtung von akuten Krankheiten stellt sich stets die Frage nach der Rolle von Vorerkrankungen. In der vorliegenden Studie waren Adipositas und männliches Geschlecht stark mit einem schwereren COVID-19-Verlauf assoziiert, was Ergebnisse anderer Autor\*innen bestätigen. Als zusätzliche Risikofaktoren benennen sie ein hohes Alter und weitere Komorbiditäten, wie z. B. Diabetes mellitus oder arterielle Hypertonie [67,147,181], aber auch Autoantikörper oder genetische Defekte, die die Immundefunktion negativ beeinflussen [26,240]. In der hier betrachteten Studienpopulation verstarben 11 COVID-19-Patient\*innen, ohne zuvor die Kriterien eines kritischen Verlaufs erfüllt zu haben. 8 von ihnen wurden aufgrund einer vorliegenden Patient\*innenverfügung oder aufgrund ihres eigenen Willens bzw. dem ihrer Angehörigen nicht auf die ITS verlegt. Dies lässt sich auf ein hohes Alter oder schwere Vorerkrankungen zurückführen und unterstreicht den Punkt, dass der Einfluss von Komorbiditäten in der Risikostratifizierung von akuten Krankheiten berücksichtigt werden sollte.

Mittels einheitlicher Scoring-Systeme, wie z. B. dem Charlson-Komorbiditätsindex, können 1-Jahres-Mortalitätsraten von Komorbiditäten-Konstellationen abgeschätzt und die 10-Jahres-Überlebensrate errechnet werden. Dabei fließen das Alter und 19 mögliche Grunderkrankungen mit unterschiedlicher Gewichtung in die Berechnung ein [30]. Der Charlson-Komorbiditätsindex erwies sich während der COVID-19-Pandemie als guter Prädiktor für Mortalität [177,209]. Howe et al. konnten zudem eine Korrelation zu gemessenem IP-10 feststellen [79].

Durch Impfkampagnen und unterschiedliche Eigenschaften von Virusvarianten sind zukünftige Patient\*innenpopulationen variabel. Auf Grundlage dessen und aufgrund der

Schwierigkeit überlegene Biomarker herauszufiltern, lässt sich postulieren, dass multivariable Modelle für die Risikostratifizierung besonders erfolgsversprechend sind. Knight und Kolleg\*innen entwickelten den 4C-Score zur Vorhersage des Mortalitätsrisikos bei Krankenhausaufnahme anhand einer Kohorte von circa 35 000 COVID-19-Patient\*innen. Zusätzlich zu CRP- und Harnsäure-Messwerten flossen das jeweilige Alter, Geschlecht, Anzahl der Komorbiditäten, Atemfrequenz, periphere Sauerstoffsättigung und der Bewusstseinszustand bei Aufnahme in den Score ein [94]. In Validierungsstudien konnte eine hohe Genauigkeit des 4C-Scores reproduziert werden [94,95]. Andererseits stellt der CoLACD-Mortalitätsindex eine Weiterentwicklung des Charlson-Komorbiditätsindex dar, in dem zusätzlich der Lymphozytenanteil und die Angabe von Luftnot berücksichtigt wurden. Varol et al. demonstrierten ein 11,8 mal höheres Mortalitätsrisiko von COVID-19-Patient\*innen bei Punktzahlen von über 2,5 [214]. Prospektive Validierungsstudien stehen aus. Erfolgsversprechend sind zudem auf Computeralgorithmen basierende Risikomodelle, die mittels maschinellen Lernens automatisch aus neuen Daten lernen und sich somit an zukünftige Veränderungen anpassen können [21].

Um letztendlich den überlegenen Biomarker bzw. Kombinationsscore für die Versorgung von COVID-19-Patient\*innen zu finden, sind große, prospektive Studien mit klaren Definitionen vonnöten. In einer systematischen Übersichtsarbeit wurden 66 Prognosemodelle für COVID-19 analysiert und aufgrund der schlechten Datenlage vom Einsatz aller im klinischen Alltag abgeraten, obwohl der Bedarf als hoch eingeschätzt wird [230]. Des Weiteren werden randomisiert-kontrollierte Interventionsstudien benötigt, die aufzeigen, ob das erlangte Wissen letztendlich den klinischen Alltag und die Versorgung, sowie das Outcome der COVID-19-Patient\*innen positiv beeinflusst.

In der hier vorliegenden DIRECTOR-Studie, zeigte IP-10 bei der Betrachtung der Biomarker zur *Abschätzung der Infektiosität* einer SARS-CoV-2-Infektion eine signifikante Korrelation zu zeitnah gemessenen Ct-Werten. Es ließen sich außerdem signifikant unterschiedliche Messwerte bei „infektiösen“ ( $Ct \leq 30$ ) und „nicht-infektiösen“ COVID-19-Patient\*innen beobachten, während unterschiedliche Grenzwerte Infektiosität sensitiv detektierten oder spezifisch ausschlossen. Die beschriebene Assoziation verstärkte sich bei der alleinigen Betrachtung milde erkrankter COVID-19-Patient\*innen, was möglicherweise darauf zurückzuführen ist, dass die klinische Verschlechterung auf einer Hyperinflammation beruht und somit einen Anstieg von IP-10 verursacht. Dies verschlechtert die Abschätzung der Infektiosität. Daher könnten Point-of-care-Messungen von Biomarkern insbesondere im ambulanten Sektor, wo

Patient\*innen eher milde Verläufe aufweisen, Anwendung in der Einschätzung der Infektiosität finden.

Papan et al. demonstrierten eine Korrelation von TRAIL- und IP-10-Werten mit der Viruslast von mit dem Influenzavirus infizierten Kindern. Dies lässt postulieren, dass die Anwendung nicht auf SARS-CoV-2 begrenzt ist. Die Korrelation ließ sich jedoch nicht für Infektionen mit Rhinoviren, Adenoviren und RSV zeigen [151].

Obwohl Ct-Werte mit der Vermehrung von SARS-CoV-2 in Zellkulturen assoziiert waren [140], bedarf es einem direkten Vergleich der IP-10-Messwerte zu Ansteckungsraten, um letztendlich das Potenzial von IP-10 für die Abschätzung der Infektiosität zu bewerten. Biomarker-Messungen könnten eine Alternative zu kostspieligen PCR-Tests darstellen, um Isolierungsmaßnahmen besser zu steuern und somit die öffentliche Gesundheit neben der individuellen zu verbessern.

Bei der Konzeption und Auswertung der in dieser Arbeit betrachteten DIRECTOR-Studie wurde versucht, auf möglichst viele der zuvor angeführten Kritikpunkte an anderen Studien Rücksicht zu nehmen: Es handelte sich um eine prospektive Studie, Vergleiche zu Kontrollgruppen sowie Evaluierungen weiterer Einflussvariablen (z. B. Komorbiditäten) wurden angeführt und Definitionen des COVID-19-Schweregrads orientierten sich an den WHO-Kriterien. Die Durchführung an einer Universitätsklinik ermöglichte die Generierung einer großen Kohorte mit „kritischem“ COVID-19. Des Weiteren wurden frühzeitige Messungen durch die Subgruppenanalyse garantiert und wiederholte Messungen während des Krankenhausaufenthalts berücksichtigt. Der Einsatz der Biomarker wurde in unterschiedlichen Bereichen der Infektionsdiagnostik beleuchtet, um ein ganzheitliches Bild zu erlangen.

Nichtsdestotrotz existieren auch Limitationen der Studie: Die Studie wurde monozentrisch an einer Universitätsklinik durchgeführt, was die Verallgemeinerbarkeit einschränkt. Da eine Vorstellung in der Notaufnahme für die Teilnahme vonnöten war, wurden Individuen mit milden oder asymptomatischen SARS-CoV-2-Infektionen nicht erfasst. Zudem wurden Patient\*innen in lebensbedrohlichem Zustand zum Teil aus umliegenden Krankenhäusern hierher verlegt. In diesen Fällen war es unmöglich, die Biomarker zu einem frühen Zeitpunkt der Infektion zu messen. Bei Aufnahme befanden die Patient\*innen sich also schon in unterschiedlichen Krankheitsstadien. Weitere Limitationen der Studie waren die eher kleine Studienpopulation und zum Teil schwache Effektgrößen in durchgeführten Analysen. Da die Studie vor Beginn der Impfkampagnen durchgeführt wurde, lassen sich keine Aussagen zum Verhalten der Biomarker-Level in geimpften Individuen treffen. Mögliche Ko-Infektionen und deren Auswirkungen auf die Biomarker-Expression wurden nicht gesondert analysiert. Zusätzlich waren Proband\*innen der Kontrollgruppen jünger und öfter weiblich als COVID-19-



Patient\*innen, was die Vergleichbarkeit der Gruppen mindert. Aufgrund der pandemischen COVID-19-Lage konnten nur wenige Proband\*innen mit anderen akuten Atemwegsinfektionen erfasst werden. Zudem existiert kein internationaler Standard für die Erstellung von Ct-Werten und niedrige Werte beweisen keine Infektiosität. Auswirkungen unterschiedlicher Virusvarianten wurden nicht untersucht.

Am Anfang dieser Arbeit wurde beschrieben, wie die Synthese von TRAIL, IP-10 und CRP in viralen und bakteriellen Infektionen unterschiedlich stark induziert wird. Dabei zeigt TRAIL eine bidirektionale Kinetik mit erhöhten Werten in viralen Infektionen [144]. Es stellt sich die Frage, wieso TRAIL-Werte in schwereren COVID-19-Verläufen nun niedriger sind als in milden Verläufen und zum Teil Messwerte von unter der Nachweisgrenze aufweisen. Dazu lassen sich auf dem Boden aktueller Literatur Überlegungen anstellen:

Die niedrigen TRAIL-Werte in septischen Patient\*innen mit erhöhtem Mortalitätsrisiko ließen sich auf eine Immunparalyse zurückführen [71,207]. Als Immunparalyse wird eine Unterdrückung des eigenen Immunsystems durch antiinflammatorische Mediatoren bezeichnet, die zeitlich zumeist dem Hyperinflammationssyndrom folgt. Dadurch entsteht eine der Situation nicht angemessene sekundäre Immundefizienz [3,14,220]. Ein ähnlicher Mechanismus könnte bei schwersten COVID-19-Fällen vorliegen. Dafür spricht auch die mit dem Schweregrad assoziierte Lymphozytopenie, die in dieser und in weiteren Studien (siehe Tabelle 8) gezeigt werden konnte. TRAIL wird zum Großteil von Lymphozyten gebildet [2], was die Verbindung bestärkt. Eine Korrelation der simultan gemessenen Werte konnte hier allerdings nicht gezeigt werden.

Einen weiteren Erklärungsansatz für verminderte TRAIL-Werte in schwerem COVID-19 liefert die Tatsache, dass die TRAIL-Synthese durch Interferone des Typ I induziert wird [144]. In einer Kohorte von 284 COVID-19-Patient\*innen konnten neutralisierende Autoantikörper gegen diese Interferone in 19 % der kritischen, 6 % der schweren und gar nicht in moderaten Fällen detektiert werden [211]. Bastard et al. fanden sie in 18 % der verstorbenen Patient\*innen [7]. Nach dem Alter wurde das Vorhandensein dieser Autoantikörper als zweitwichtigster Risikofaktor für kritisches COVID-19 genannt [26]. Zusätzlich konnten negative gesundheitliche Auswirkungen bei Influenzavirus-Infektionen, Gelbfieber-Impfungen und rezidivierendem Herpes Zoster gezeigt werden [8,20,175,241]. Des Weiteren werden angeborene Immundefekte, insbesondere bei Typ-I-Interferonen, welche in bis zu 5 % der Patient\*innen unter 60 Jahren mit kritischer COVID-19-Peumonie gefunden wurden, als Risikofaktoren diskutiert [240]. Sofern ein Defekt der Interferone oder dagegen gerichtete Antikörper vorliegen, könnte die Stimulierung der TRAIL-Synthese fehlen bzw. vermindert ausfallen.

Im Gegenzug dazu lässt sich die Überlegung anstellen, dass niedrige TRAIL-Level einen negativen Einfluss auf den Krankheitsverlauf haben könnten. Es konnte gezeigt werden, dass TRAIL durch die Einleitung einer gezielten Apoptose von Immunzellen an der Auflösung von Entzündungsprozessen beteiligt ist [128]. Außerdem ist TRAIL in die Beseitigung von viral infizierten Zellen involviert und erhöhte Viruslasten konnten bei TRAIL-Defizienz beobachtet werden [56]. Zusätzlich spielt TRAIL eine Rolle in der Ausreifung von dendritischen Zellen [35]. Somit könnte man postulieren, dass ein vermindertes TRAIL schwere Verläufe begünstigt bzw. beschwert. Diese These wird durch die Beobachtung gestützt, dass sich die Immunfunktion septischer Mäuse durch die Gabe von rekombinantem TRAIL bessern ließ [41]. Allerdings darf nicht vergessen werden, dass jede Apoptose auch Zellschäden verursacht und sehr hohe TRAIL-Werte daher nicht als protektiv angesehen werden können.

Erhöhte Werte von IP-10 und CRP finden sich sowohl bei viralen als auch bei bakteriellen Infektionen, allerdings in unterschiedlichem Ausmaß. Die verstärkte Synthese in schweren Verläufen der SARS-CoV-2-Infektion lässt sich, wie bereits dargelegt, auf hyperinflammatorische Prozesse zurückführen. Interferon- $\gamma$  und IL-6 sind Effektormoleküle der IP-10- und CRP-Produktion und gehören gleichzeitig zu den Hauptbeteiligten der unkontrollierten Hyperinflammation (auch Zytokinsturm) [92,119,187]. Sepsis, definiert als „lebensbedrohliche Organdysfunktion, die durch eine dysregulierte Immunantwort auf eine Infektion verursacht wird“ [182], kann durch zahlreiche Infektionserreger entstehen und ist die häufigste Ursache eines Zytokinsturms [85]. Yuan et al. versuchten diesen bei unterschiedlichen Virus-Infektionen zu quantifizieren. Bei SARS-CoV-2-, Ebola-Virus-, West-Nil-Virus- und Hepatitis-C-Virus-Infektionen war dieser besonders ausgeprägt. IP-10 gehörte dabei zu den am häufigsten erhöhten Zytokinen [235]. Da die CRP-Produktion zusätzlich noch bei Zellschädigung und Kontakt zu Zellwandbestandteilen von Bakterien induziert wird [11], sind erhöhte Werte der beiden Biomarker bei Infektionen, insbesondere bei schweren, nicht selten. CRP ist vielerorts bereits als aussagekräftiger Marker für Entzündungsprozesse in der Routinediagnostik implementiert [187]. Ein Anstieg zeigt sich bei Infektionen, ist aber auch bei Traumata, Malignomen, Autoimmunprozessen, usw. zu beobachten [187,215].

All dies zeichnet das Bild eines großen Anwendungsspektrums für Biomarker in der Infektiologie. In der Diagnostik werden die Messungen den Einsatz von Pathogenspezifischen Instrumenten vermutlich nicht ersetzen können, da ähnliche Sensitivitäten und Spezifitäten nicht erreicht werden. Oft ist das durch eine Infektion ausgelöste klinische Bild jedoch nicht eindeutig und epidemiologische Wahrscheinlichkeiten nicht

annähernd so hoch wie während einer Pandemie. Dies erschwert das Stellen einer Verdachtsdiagnose und die Einleitung Pathogen-spezifischer Diagnostik. Hier könnte die Verwendung von Biomarkern die infektiologische Diagnostik komplementieren, indem sie das Erregerspektrum eingrenzt. Durch Multiplex-PCR oder funktionelle Genomanalysen mittels Sequenzierungstechnologien der nächsten Generation (engl.: metagenomic Next-Generation Sequencing, mNGS) könnte im Verlauf auf multiple Erreger simultan getestet werden [9,34,54,69,153]. Erste Technologien sind bereits als Point-of-Care-Plattformen erhältlich [45]. Die Messung von immun-basierten Biomarkern ist zudem unbeeinflusst von sich (weiter-)entwickelnden Stämmen/Varianten, ein möglicherweise invasiver Zugangsweg zum Infektionsort für die Probenentnahme wäre nicht zwangsläufig und eine Unterscheidung von Besiedlung (Kolonisation) und krankheitsverursachendem Pathogen scheint möglich [145]. Erste mNGS-Plattformen integrieren bereits die additive Testung des menschlichen Wirtsgenoms bzw. -transkriptoms. Bislang wurden Anwendbarkeit und Nutzen im klinischen Alltag jedoch nicht ausreichend untersucht [34,69,201].

Insbesondere die Möglichkeit, mittels Point-of-Care-Biomarkern schnell zwischen bakterieller und viraler infektiologischer Entität zu differenzieren, ist bedeutend für die Einleitung akuter, empirischer Therapien und in Fällen mit frustranem Erregernachweis. Hieraus ergibt sich großes Potenzial für den adäquaten Einsatz und das Einsparen von Antibiotika [1,150,155], was angesichts der wachsenden Bedrohung von Antibiotikaresistenzen von grundlegender Bedeutung ist [58,62,127,135,136,224].

Zusätzlich lässt sich durch die Messung immun-basierter Biomarker die Frage der Anfälligkeit für schwerere Verläufe von Infektionskrankheiten beleuchten. Durch das frühzeitige Einschätzen des individuellen Risikos können Priorisierungen vorgenommen und Ressourcen verteilt werden. Hinzukommend lassen sich der klinische Verlauf überwachen, therapeutische Entscheidungen vereinfachen und letztendlich die Krankenversorgung optimieren.

Insgesamt lässt sich sagen, dass die COVID-19-Pandemie die Infektiologie und die Relevanz stetiger Innovationen ins Zentrum der Aufmerksamkeit gerückt und die dahingehende Forschung angekurbelt hat. Der zukünftige Verlauf von COVID-19 ist ungewiss. Allerdings stellen auch milde Fälle in großer Zahl eine Belastung für das Gesundheitssystem dar und sollten daher nicht unbeachtet sein. Zukünftig sollten Lehren aus der Pandemie gezogen und Bestrebungen unternommen werden, die gewonnenen Erkenntnisse breitflächig anzuwenden, um der „ewigen Herausforderung der mikrobiellen Anpassung“ [58] gewachsen und gegen neue Ausbrüche gewappnet zu sein [49,162].

## 9 Literaturverzeichnis

1. Aabenhus R, Jensen J-US, Jørgensen KJ, Hróbjartsson A, Bjerrum L (2014) Biomarkers as point-of-care tests to guide prescription of antibiotics in patients with acute respiratory infections in primary care. *Cochrane Database Syst Rev* 11:CD010130
2. Aboulnasr F, Paranjape G, Badley AD (2018) The TRAIL: TRAILshort Axis in HIV Immunopathology. *Crit Rev Immunol* 38:491–503
3. Adib-Conquy M, Cavaillon J-M (2009) Compensatory anti-inflammatory response syndrome. *Thromb Haemost* 101:36–47
4. Akdur G, Daş M, Bardakci O, Akman C, Sıddıkoğlu D, Akdur O, Akçalı A, Erbaş M, Reşorlu M, Beyazit Y (2021) Prediction of mortality in COVID-19 through combining CT severity score with NEWS, qSOFA, or peripheral perfusion index. *Am J Emerg Med* 50:546–552
5. Altintas I, Eugen-Olsen J, Seppälä S, Tingleff J, Stauning MA, El Caidi NO, Elmajdoubi S, Gamst-Jensen H, Lindstrøm MB, Rasmussen LJH, Kristiansen KT, Rasmussen C, Nehlin JO, Kallemose T, Hyppölä H, Andersen O (2021) suPAR Cut-Offs for Risk Stratification in Patients With Symptoms of COVID-19. *Biomark Insights* 16:11772719211034684
6. Aschwanden C (2021) Five reasons why COVID herd immunity is probably impossible. *Nature* 591:520–522
7. Bastard P, Gervais A, Le Voyer T, Rosain J, Philippot Q, Manry J, Michailidis E, Hoffmann H-H, Eto S, Garcia-Prat M, Bizien L, Parra-Martínez A, Yang R, Haljasmägi L, Migaud M, Särekannu K, Maslovskaja J, de Prost N, Tandjaoui-Lambiotte Y, Luyt C-E, Amador-Borrero B, Gaudet A, Poissy J, Morel P, Richard P, Cognasse F, Troya J, Trouillet-Assant S, Belot A, Saker K, Garçon P, Rivière JG, Lagier J-C, Gentile S, Rosen LB, Shaw E, Morio T, Tanaka J, Dalmau D, Tharaux P-L, Sene D, Stepanian A, Megarbane B, Triantafyllia V, Fekkar A, Heath JR, Franco JL, Anaya J-M, Solé-Violán J, Imberti L, Biondi A, Bonfanti P, Castagnoli R, Delmonte OM, Zhang Y, Snow AL, Holland SM, Biggs C, Moncada-Vélez M, Arias AA, Lorenzo L, Boucherit S, Coulibaly B, Anglicheau D, Planas AM, Haerynck F, Duvlis S, Nussbaum RL, Ozcelik T, Keles S, Bousfiha AA, El Bakkouri J, Ramirez-Santana C, Paul S, Pan-Hammarström Q, Hammarström L, Dupont A, Kurolap A, Metz CN, Aiuti A, Casari G, Lampasona V, Ciceri F, Barreiros LA, Dominguez-Garrido E, Vidigal M, Zatz M, van de Beek D, Sahanic S, Tancevski I, Stepanovskyy Y, Boyarchuk O, Nukui Y, Tsumura M, Vidaur L, Tangye SG, Burrell S, Duffy D, Quintana-Murci L, Klocperk A, Kann NY, Shcherbina A, Lau Y-L, Leung D, Coulangeat M, Marlet J, Koning R, Reyes LF, Chauvineau-Grenier A, Venet F, Monneret G, Nussenzweig MC, Arrestier R, Boudhabhay I, Baris-Feldman H, Hagin D, Wauters J, Meyts I, Dyer AH, Kennelly SP, Bourke NM, Halwani R, Sharif-Askari NS, Dorgham K, Sallette J, Sedkaoui SM, AlKhater S, Rigo-Bonnin R, Morandeira F, Roussel L, Vinh DC, Ostrowski SR, Condino-Neto A, Prando C, Bonradenko A, Spaan AN, Gilardin L, Fellay J, Lyonnet S, Bilguvar K, Lifton RP, Mane S, HGID Lab, COVID Clinicians, COVID-STORM Clinicians, NIAID Immune Response to COVID Group, NH-COVAIR Study Group, Danish CHGE, Danish Blood Donor Study, St. James's Hospital, SARS CoV2 Interest group, French COVID Cohort Study Group, Imagine COVID-Group, Milieu Intérieur Consortium, CoV-Contact Cohort, Amsterdam UMC Covid-19, Biobank Investigators, COVID Human Genetic Effort, CONSTANCES cohort, 3C-Dijon Study, Cerba Health-Care, Etablissement du Sang study group, Anderson MS, Boisson B, Béziat V, Zhang S-Y, Vandreakos E, Hermine

- O, Pujol A, Peterson P, Mogensen TH, Rowen L, Mond J, Debette S, de Lamballerie X, Duval X, Mentré F, Zins M, Soler-Palacin P, Colobran R, Gorochov G, Solanich X, Susen S, Martinez-Picado J, Raoult D, Vasse M, Gregersen PK, Piemonti L, Rodríguez-Gallego C, Notarangelo LD, Su HC, Kisand K, Okada S, Puel A, Jouanguy E, Rice CM, Tiberghien P, Zhang Q, Cobat A, Abel L, Casanova J-L (2021) Autoantibodies neutralizing type I IFNs are present in ~4% of uninfected individuals over 70 years old and account for ~20% of COVID-19 deaths. *Sci Immunol* 6:eabl4340
8. Bastard P, Michailidis E, Hoffmann H-H, Chbihi M, Le Voyer T, Rosain J, Philippot Q, Seeleuthner Y, Gervais A, Materna M, de Oliveira PMN, Maia M de LS, Dinis Anó Bom AP, Azamor T, Araújo da Conceição D, Goudouris E, Homma A, Slesak G, Schäfer J, Pulendran B, Miller JD, Huits R, Yang R, Rosen LB, Bizien L, Lorenzo L, Chrabieh M, Erazo LV, Rozenberg F, Jeljeli MM, Béziat V, Holland SM, Cobat A, Notarangelo LD, Su HC, Ahmed R, Puel A, Zhang S-Y, Abel L, Seligman SJ, Zhang Q, MacDonald MR, Jouanguy E, Rice CM, Casanova J-L (2021) Auto-antibodies to type I IFNs can underlie adverse reactions to yellow fever live attenuated vaccine. *J Exp Med* 218:e20202486
  9. Beal SG, Posa M, Gaffar M, Reppucci J, Mack JA, Gurka MJ, Rand K, Houck H, Kelly MN (2020) Performance and Impact of a CLIA-waived, Point-of-care Respiratory PCR Panel in a Pediatric Clinic. *Pediatr Infect Dis J* 39:188–191
  10. Bhardwaj T, Ramana LN, Sharma TK (2022) Current Advancements and Future Road Map to Develop ASSURED Microfluidic Biosensors for Infectious and Non-Infectious Diseases. *Biosensors* 12:357
  11. Black S, Kushner I, Samols D (2004) C-reactive Protein. *J Biol Chem* 279:48487–48490
  12. Boehm E, Kronig I, Neher RA, Eckerle I, Vetter P, Kaiser L (2021) Novel SARS-CoV-2 variants: the pandemics within the pandemic. *Clin Microbiol Infect* 27:1109–1117
  13. Böger B, Fachi MM, Vilhena RO, Cobre AF, Tonin FS, Pontarolo R (2021) Systematic review with meta-analysis of the accuracy of diagnostic tests for COVID-19. *Am J Infect Control* 49:21–29
  14. Boomer JS, To K, Chang KC, Takasu O, Osborne DF, Walton AH, Bricker TL, Jarman SD, Kreisel D, Krupnick AS, Srivastava A, Swanson PE, Green JM, Hotchkiss RS (2011) Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure. *JAMA* 306:2594–2605
  15. Booth V, Keizer DW, Kamphuis MB, Clark-Lewis I, Sykes BD (2002) The CXCR3 binding chemokine IP-10/CXCL10: structure and receptor interactions. *Biochemistry* 41:10418–10425
  16. Brendish NJ, Tanner AR, Poole S, Beard KR, Naidu VV, Mansbridge CT, Norton NJ, Wheeler H, Presland L, Clark TW (2022) Combined RT-PCR and Host Response Point-of-Care Testing in Patients Hospitalised with Suspected COVID-19: A Prospective Diagnostic Accuracy Study. *Infect Dis Ther* 11:1267–1280
  17. Brincks EL, Kucaba TA, Legge KL, Griffith TS (2008) Influenza-induced expression of functional tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand on human peripheral blood mononuclear cells. *Hum Immunol* 69:634–646

18. Buitrago-Garcia D, Egli-Gany D, Counotte MJ, Hossmann S, Imeri H, Ipekci AM, Salanti G, Low N (2020) Occurrence and transmission potential of asymptomatic and presymptomatic SARS-CoV-2 infections: A living systematic review and meta-analysis. *PLOS Medicine* 17:e1003346
19. Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung: AHA-Formel: Alltagsleben in Coronazeiten. URL: <https://www.infektionsschutz.de/coronavirus/alltag-in-zeiten-von-corona/> [abgerufen am 30.08.2023]
20. Busnadiego I, Abela IA, Frey PM, Hofmaenner DA, Scheier TC, Schuepbach RA, Buehler PK, Brugger SD, Hale BG (2022) Critically ill COVID-19 patients with neutralizing autoantibodies against type I interferons have increased risk of herpesvirus disease. *PLoS Biol* 20:e3001709
21. Byeon SK, Madugundu AK, Garapati K, Ramarajan MG, Saraswat M, Kumar-M P, Hughes T, Shah R, Patnaik MM, Chia N, Ashrafzadeh-Kian S, Yao JD, Pritt BS, Cattaneo R, Salama ME, Zenka RM, Kipp BR, Grebe SKG, Singh RJ, Sadighi Akha AA, Algeciras-Schimmich A, Dasari S, Olson JE, Walsh JR, Venkatakishnan AJ, Jenkinson G, O'Horo JC, Badley AD, Pandey A (2022) Development of a multiomics model for identification of predictive biomarkers for COVID-19 severity: a retrospective cohort study. *Lancet Digit Health* 4:e632–e645
22. Carabelli AM, Peacock TP, Thorne LG, Harvey WT, Hughes J, COVID-19 Genomics UK Consortium, Peacock SJ, Barclay WS, de Silva TI, Towers GJ, Robertson DL (2023) SARS-CoV-2 variant biology: immune escape, transmission and fitness. *Nat Rev Microbiol* 21:162–177
23. Casadevall A, Pirofski L (2018) What Is a Host? Attributes of Individual Susceptibility. *Infect Immun* 86:e00636-17
24. Casanova J-L, Abel L (2013) The Genetic Theory of Infectious Diseases: A Brief History and Selected Illustrations. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 14:215–243
25. Casanova J-L, Abel L (2022) From rare disorders of immunity to common determinants of infection: Following the mechanistic thread. *Cell* 185:3086–3103
26. Casanova J-L, Anderson MS (2023) Unlocking life-threatening COVID-19 through two types of inborn errors of type I IFNs. *J Clin Invest* 133:e166283
27. Castelli F, Sulis G (2017) Migration and infectious diseases. *Clin Microbiol Infect* 23:283–289
28. Cecconi M, Piovani D, Brunetta E, Aghemo A, Greco M, Ciccarelli M, Angelini C, Voza A, Omodei P, Vespa E, Pugliese N, Parigi TL, Folci M, Danese S, Bonovas S (2020) Early Predictors of Clinical Deterioration in a Cohort of 239 Patients Hospitalized for Covid-19 Infection in Lombardy, Italy. *J Clin Med* 9:1548
29. Cevik M, Tate M, Lloyd O, Maraolo AE, Schafers J, Ho A (2021) SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV viral load dynamics, duration of viral shedding, and infectiousness: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Microbe* 2:e13–e22
30. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR (1987) A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis* 40:373–383

31. Charo IF, Ransohoff RM (2006) The Many Roles of Chemokines and Chemokine Receptors in Inflammation. *N Engl J Med* 354:610–621
32. Chen H, Liu K, Li Z, Wang P (2019) Point of Care Testing for Infectious Diseases. *Clin Chim Acta* 493:138–147
33. Chen Y, Wang J, Liu C, Su L, Zhang D, Fan J, Yang Y, Xiao M, Xie J, Xu Y, Li Y, Zhang S (2020) IP-10 and MCP-1 as biomarkers associated with disease severity of COVID-19. *Mol Med* 26:97
34. Chiu CY, Miller SA (2019) Clinical metagenomics. *Nat Rev Genet* 20:341–355
35. Cho YS, Challa S, Clancy L, Chan FK-M (2010) Lipopolysaccharide-induced expression of TRAIL promotes dendritic cell differentiation. *Immunology* 130:504–515
36. Christian MD (2019) Triage. *Crit Care Clin* 35:575–589
37. Chu H, Chan JF-W, Wang Y, Yuen TT-T, Chai Y, Hou Y, Shuai H, Yang D, Hu B, Huang X, Zhang X, Cai J-P, Zhou J, Yuan S, Kok K-H, To KK-W, Chan IH-Y, Zhang AJ, Sit K-Y, Au W-K, Yuen K-Y (2020) Comparative Replication and Immune Activation Profiles of SARS-CoV-2 and SARS-CoV in Human Lungs: An Ex Vivo Study With Implications for the Pathogenesis of COVID-19. *Clin Infect Dis* 71:1400–1409
38. Ciccacci F, Florida M, Bernardini R, Sidumo Z, Mugunhe RJ, Andreotti M, Passanduca A, Magid NA, Orlando S, Mattei M, Giuliano M, Mancinelli S, Marazzi MC, Palombi L (2019) Plasma levels of CRP, neopterin and IP-10 in HIV-infected individuals with and without pulmonary tuberculosis. *J Clin Tuberc Other Mycobact Dis* 16:100107
39. Cinquanta L, Fontana DE, Bizzaro N (2017) Chemiluminescent immunoassay technology: what does it change in autoantibody detection? *Autoimmun Highlights* 8:1–8
40. Cox KL, Devanarayan V, Kriauciunas A, Manetta J, Montrose C, Sittampalam S (2012) *Immunoassay Methods*. Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences, Bethesda (MD)
41. Cziupka K, Busemann A, Partecke LI, Pötschke C, Rath M, Traeger T, Koerner P, von Bernstorff W, Kessler W, Diedrich S, Weiss FU, Maier S, Bröker BM, Heidecke C-D (2010) Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) improves the innate immune response and enhances survival in murine polymicrobial sepsis. *Crit Care Med* 38:2169–2174
42. de Wit E, van Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ (2016) SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* 14:523–534
43. Degli-Esposti M (1999) To die or not to die--the quest of the TRAIL receptors. *J Leukoc Biol* 65:535–542
44. Di Nisio M, Squizzato A, Rutjes AWS, Büller HR, Zwinderman AH, Bossuyt PMM (2007) Diagnostic accuracy of D-dimer test for exclusion of venous thromboembolism: a systematic review. *J Thromb Haemost* 5:296–304

45. Dinnes J, Deeks JJ, Berhane S, Taylor M, Adriano A, Davenport C, Dittrich S, Emperador D, Takwoingi Y, Cunningham J, Beese S, Domen J, Dretzke J, Ferrante di Ruffano L, Harris IM, Price MJ, Taylor-Phillips S, Hooft L, Leeflang MM, McInnes MD, Spijker R, Van den Bruel A, Cochrane COVID-19 Diagnostic Test Accuracy Group (2021) Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. *Cochrane Database Syst Rev* 3:CD013705
46. Dollinger MM, Fechner L, Fleig WE (2005) Frühdiagnostik von Lebererkrankungen. *Internist* 46:411–420
47. dos Santos WG (2020) Natural history of COVID-19 and current knowledge on treatment therapeutic options. *Biomed Pharmacother* 129:110493
48. Du Z, Liu C, Wang L, Bai Y, Lau EHY, Wu P, Cowling BJ (2022) Shorter serial intervals and incubation periods in SARS-CoV-2 variants than the SARS-CoV-2 ancestral strain. *J Travel Med* 29:taac052
49. Edwards AM, Baric RS, Saphire EO, Ulmer JB (2022) Stopping pandemics before they start: Lessons learned from SARS-CoV-2. *Science* 375:1133–1139
50. Ejazi SA, Ghosh S, Ali N (2021) Antibody detection assays for COVID-19 diagnosis: an early overview. *Immunol Cell Biol* 99:21–33
51. Elmore S (2007) Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicol Pathol* 35:495–516
52. Elshazli RM, Toraih EA, Elgaml A, El-Mowafy M, El-Mesery M, Amin MN, Hussein MH, Killackey MT, Fawzy MS, Kandil E (2020) Diagnostic and prognostic value of hematological and immunological markers in COVID-19 infection: A meta-analysis of 6320 patients. *PLoS One* 15:e0238160
53. Enocsson H, Idoff C, Gustafsson A, Govender M, Hopkins F, Larsson M, Nilsson-Augustinsson Å, Sjöwall J (2021) Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor (suPAR) Independently Predicts Severity and Length of Hospitalisation in Patients With COVID-19. *Front Med (Lausanne)* 8:791716
54. Esposito S, Mencacci A, Cenci E, Camilloni B, Silvestri E, Principi N (2019) Multiplex Platforms for the Identification of Respiratory Pathogens: Are They Useful in Pediatric Clinical Practice? *Front Cell Infect Microbiol* 9:196
55. Fallahi P, Ragusa F (2016) Mesothelioma and interferon- $\gamma$ -dependent chemokine IP-10. *Clin Ter* 167:e192–e197
56. Falschlehner C, Schaefer U, Walczak H (2009) Following TRAIL's path in the immune system. *Immunology* 127:145–154
57. Farah R, Khamisy-Farah R, Makhoul N (2018) Consecutive Measures of CRP Correlate with Length of Hospital Stay in Patients with Community-Acquired Pneumonia. *Isr Med Assoc J* 20:345–348
58. Fauci AS, Morens DM (2012) The perpetual challenge of infectious diseases. *N Engl J Med* 366:454–461
59. FDA-NIH Biomarker Working Group (2016) BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource. Food and Drug Administration (US), Silver Spring (MD)



60. Fenner F, Henderson DA, Arita I, Jezek Z, Ladnyi ID (1988) Smallpox and its eradication. World Health Organization, Geneva
61. Ferreira CES, Guerra JCC, Silhessarenko N, Scartezini M, Franca CN, Colombini MP, Berlitz F, Machado AMO, Campana GA, Faulhaber ACL, Galoro CA, Dias CM, Shcolnik W, Martino MDV, Cesar KR, Sumita NM, Mendes ME, Faulhaber MHW, Pinho JRR, Barbosa IV, Batista MC, Khawali C, Pariz VM, Andriolo A (2018) Point-of-Care Testing: General Aspects. *Clin Lab* 64:1–9
62. Ferri M, Ranucci E, Romagnoli P, Giaccone V (2017) Antimicrobial resistance: A global emerging threat to public health systems. *Crit Rev Food Sci Nutr* 57:2857–2876
63. Figliozzi S, Masci PG, Ahmadi N, Tondi L, Koutli E, Aimo A, Stamatelopoulos K, Dimopoulos M-A, Caforio ALP, Georgiopoulos G (2020) Predictors of adverse prognosis in COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Invest* 50:e13362
64. Florin TA, Ambroggio L, Brokamp C, Zhang Y, Rattan M, Crotty E, Belsky MA, Krueger S, Epperson TN, Kachelmeyer A, Ruddy R, Shah SS (2020) Biomarkers and Disease Severity in Children With Community-Acquired Pneumonia. *Pediatrics* 145:e20193728
65. Fröhlich F, Gronwald B, Bay J, Simon A, Poryo M, Geisel J, Tegethoff SA, Last K, Rissland J, Smola S, Becker SL, Zemlin M, Meyer S, Papan C (2023) Expression of TRAIL, IP-10, and CRP in children with suspected COVID-19 and real-life impact of a computational signature on clinical decision-making: a prospective cohort study. *Infection* 51:1349–1356
66. Galassi L, Schena D (2021) The Modified National Early Warning Score (m-NEWS) for COVID-19-Infected Patient Evaluation: a Proof-of-Concept. *SN Compr Clin Med* 3:9–10
67. Gao Y-D, Ding M, Dong X, Zhang J-J, Kursat Azkur A, Azkur D, Gan H, Sun Y-L, Fu W, Li W, Liang H-L, Cao Y-Y, Yan Q, Cao C, Gao H-Y, Brüggem M-C, van de Veen W, Sokolowska M, Akdis M, Akdis CA (2021) Risk factors for severe and critically ill COVID-19 patients: A review. *Allergy* 76:428–455
68. Gavriatopoulou M, Korompoki E, Fotiou D, Ntanasis-Stathopoulos I, Psaltopoulou T, Kastiritis E, Terpos E, Dimopoulos MA (2020) Organ-specific manifestations of COVID-19 infection. *Clin Exp Med* 20:493–506
69. Gu W, Miller S, Chiu CY (2019) Clinical Metagenomic Next-Generation Sequencing for Pathogen Detection. *Annu Rev Pathol* 14:319–338
70. Gupta A, Madhavan MV, Sehgal K, Nair N, Mahajan S, Sehrawat TS, Bikdeli B, Ahluwalia N, Ausiello JC, Wan EY, Freedberg DE, Kirtane AJ, Parikh SA, Maurer MS, Nordvig AS, Accili D, Bathon JM, Mohan S, Bauer KA, Leon MB, Krumholz HM, Uriel N, Mehra MR, Elkind MSV, Stone GW, Schwartz A, Ho DD, Bilezikian JP, Landry DW (2020) Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nat Med* 26:1017–1032
71. Gurung P, Rai D, Condotta SA, Babcock JC, Badovinac VP, Griffith TS (2011) Immune unresponsiveness to secondary heterologous bacterial infection after sepsis induction is TRAIL dependent. *J Immunol* 187:2148–2154

72. Hainrichson<sup>1</sup> M, Simon E, Kalfon R, Senderovich N, Shamir N, Kaminer-Israeli Y, Navon R, Halabi S, Klein-Kremer A, Eden E (2023) B-277 Analytical Validation of Whole Blood Suitability for MeMed BV, A Host-protein Test for Differentiating Between Bacterial and Viral Infection. *Clin Chem* 69:hvad097.599
73. Hariyanto TI, Japar KV, Kwenandar F, Damay V, Siregar JI, Lugito NPH, Tjiang MM, Kurniawan A (2021) Inflammatory and hematologic markers as predictors of severe outcomes in COVID-19 infection: A systematic review and meta-analysis. *Am J Emerg Med* 41:110–119
74. Haroun RA-H, Osman WH, Eessa AM (2021) Interferon- $\gamma$ -induced protein 10 (IP-10) and serum amyloid A (SAA) are excellent biomarkers for the prediction of COVID-19 progression and severity. *Life Sci* 269:119019
75. Heim A, Ziesing S, Schubert S, Vonberg R-P (2020) *Klinische Diagnostik und Probennahme*. Springer, Berlin, Heidelberg
76. Henry BM, Oliveira MHS de, Benoit S, Plebani M, Lippi G (2020) Hematologic, biochemical and immune biomarker abnormalities associated with severe illness and mortality in coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. *Clin Chem Lab Med* 58:1021–1028
77. Hirabara SM, Serdan TDA, Gorjao R, Masi LN, Pithon-Curi TC, Covas DT, Curi R, Durigon EL (2021) SARS-COV-2 Variants: Differences and Potential of Immune Evasion. *Front Cell Infect Microbiol* 11:781429
78. Homma Y, Katsuta T, Oka H, Inoue K, Toyoshima C, Iwaki H, Yamashita Y, Shinomiya H (2021) The incubation period of the SARS-CoV-2 B.1.1.7 variant is shorter than that of other strains. *J Infect* 83:e15–e17
79. Howe HS, Ling LM, Elangovan E, Vasoo S, Abdad MY, Thong BYH, Kong KO, Leung BPL (2021) Plasma IP-10 could identify early lung disease in severe COVID-19 patients. *Ann Acad Med Singap* 50:856–858
80. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, Fan G, Xu J, Gu X, Cheng Z, Yu T, Xia J, Wei Y, Wu W, Xie X, Yin W, Li H, Liu M, Xiao Y, Gao H, Guo L, Xie J, Wang G, Jiang R, Gao Z, Jin Q, Wang J, Cao B (2020) Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 395:497–506
81. Huang I, Pranata R, Lim MA, Oehadian A, Alisjahbana B (2020) C-reactive protein, procalcitonin, D-dimer, and ferritin in severe coronavirus disease-2019: a meta-analysis. *Ther Adv Respir Dis* 14:1753466620937175
82. Hwang H, Hwang B-Y, Bueno J (2018) Biomarkers in Infectious Diseases. *Dis Markers* 2018:8509127
83. Iuliano AD, Roguski KM, Chang HH, Muscatello DJ, Palekar R, Tempia S, Cohen C, Gran JM, Schanzer D, Cowling BJ, Wu P, Kyncl J, Ang LW, Park M, Redlberger-Fritz M, Yu H, Espenhain L, Krishnan A, Emukule G, van Asten L, Pereira da Silva S, Aungkulanon S, Buchholz U, Widdowson M-A, Bresee JS, Global Seasonal Influenza-associated Mortality Collaborator Network (2018) Estimates of global seasonal influenza-associated respiratory mortality: a modelling study. *Lancet* 391:1285–1300
84. Iuliano AD, Brunkard JM, Boehmer TK, Peterson E, Adjei S, Binder AM, Cobb S, Graff P, Hidalgo P, Panaggio MJ, Rainey JJ, Rao P, Soetebier K, Wacaster S, Ai C,

- Gupta V, Molinari N-AM, Ritchey MD (2022) Trends in Disease Severity and Health Care Utilization During the Early Omicron Variant Period Compared with Previous SARS-CoV-2 High Transmission Periods - United States, December 2020-January 2022. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 71:146–152
85. Jarczak D, Nierhaus A (2022) Cytokine Storm—Definition, Causes, and Implications. *Int J Mol Sci* 23:11740
86. Jeong YD, Ejima K, Kim KS, Iwanami S, Bento AI, Fujita Y, Jung IH, Aihara K, Watashi K, Miyazaki T, Wakita T, Iwami S, Ajelli M Revisiting the guidelines for ending isolation for COVID-19 patients. *eLife* 10:e69340
87. Ji P, Zhu J, Zhong Z, Li H, Pang J, Li B, Zhang J (2020) Association of elevated inflammatory markers and severe COVID-19. *Medicine (Baltimore)* 99:e23315
88. Juthani PV, Gupta A, Borges KA, Price CC, Lee AI, Won CH, Chun HJ (2021) Hospitalisation among vaccine breakthrough COVID-19 infections. *Lancet Infect Dis* 1485–1486
89. Kerber R, Krumkamp R, Korva M, Rieger T, Wurr S, Duraffour S, Oestereich L, Gabriel M, Sissoko D, Anglaret X, Malvy D, May J, Avši T (2018) Kinetics of Soluble Mediators of the Host Response in Ebola Virus Disease. *J Infect Dis* 218:496–503
90. Khinda J, Janjua NZ, Cheng S, van den Heuvel ER, Bhatti P, Darvishian M (2021) Association between markers of immune response at hospital admission and COVID-19 disease severity and mortality: A meta-analysis and meta-regression. *J Med Virol* 93:1078–1098
91. Khodeir MM, Shabana HA, Alkhamiss AS, Rasheed Z, Alsoghair M, Alsagaby SA, Khan MI, Fernández N, Al Abdulmonem W (2021) Early prediction keys for COVID-19 cases progression: A meta-analysis. *J Infect Public Health* 14:561–569
92. Kim JS, Lee JY, Yang JW, Lee KH, Effenberger M, Szpirt W, Kronbichler A, Shin JI (2021) Immunopathogenesis and treatment of cytokine storm in COVID-19. *Theranostics* 11:316–329
93. Kluge S, Janssens U, Welte T, Weber-Carstens S, Schälte G, Spinner CD, Malin JJ, Gastmeier P, Langer F, Bracht H, Westhoff M, Pfeifer M, Rabe KF, Hoffmann F, Böttiger BW, Weinmann-Menke J, Kersten A, Berlit P, Krawczyk M, Haase R, Müller OJ, Specker C, Nothacker M, Marx G, Karagiannidis C (2023) S3-Leitlinie - Empfehlungen zur Therapie von Patienten mit COVID-19. URL: [https://register.awmf.org/assets/guidelines/113-001LGI\\_S3\\_Empfehlungen-zur-stationaeren-Therapie-von-Patienten-mit-COVID-19\\_2023-03.pdf](https://register.awmf.org/assets/guidelines/113-001LGI_S3_Empfehlungen-zur-stationaeren-Therapie-von-Patienten-mit-COVID-19_2023-03.pdf) [abgerufen am 22.08.2023].
94. Knight SR, Ho A, Pius R, Buchan I, Carson G, Drake TM, Dunning J, Fairfield CJ, Gamble C, Green CA, Gupta R, Halpin S, Hardwick HE, Holden KA, Horby PW, Jackson C, Mclean KA, Merson L, Nguyen-Van-Tam JS, Norman L, Noursadeghi M, Olliaro PL, Pritchard MG, Russell CD, Shaw CA, Sheikh A, Solomon T, Sudlow C, Swann OV, Turtle LC, Openshaw PJ, Baillie JK, Semple MG, Docherty AB, Harrison EM, Baillie JK, Semple MG, Openshaw PJ, Carson G, Alex B, Bach B, Barclay WS, Bogaert D, Chand M, Cooke GS, Docherty AB, Dunning J, da Silva Filipe A, Fletcher T, Green CA, Harrison EM, Hiscox JA, Ho AYW, Horby PW, Ijaz S, Khoo S, Klenerman P, Law A, Lim WS, Mentzer AJ, Merson L, Meynert AM, Noursadeghi M, Moore SC, Palmarini M, Paxton WA, Pollakis G, Price N, Rambaut A, Robertson DL, Russell CD, Sancho-Shimizu V, Scott JT, Sigfrid L, Solomon T, Sriskandan S, Stuart

- D, Summers C, Tedder RS, Thomson EC, Thwaites RS, Turtle LC, Zambon M, Hardwick H, Donohue C, Ewins J, Oosthuyzen W, Griffiths F, Norman L, Pius R, Drake TM, Fairfield CJ, Knight S, Mclean KA, Murphy D, Shaw CA, Dalton J, Girvan M, Saviciute E, Roberts S, Harrison J, Marsh L, Connor M, Halpin S, Jackson C, Gamble C, Leeming G, Law A, Hendry R, Scott-Brown J, Greenhalf W, Shaw V, McDonald S, Ahmed KA, Armstrong JA, Ashworth M, Asiimwe IG, Bakshi S, Barlow SL, Booth L, Brennan B, Bullock K, Catterall BW, Clark JJ, Clarke EA, Cole S, Cooper L, Cox H, Davis C, Dincarslan O, Dunn C, Dyer P, Elliott A, Evans A, Fisher LW, Foster T, Garcia-Dorival I, Greenhalf W, Gunning P, Hartley C, Ho A, Jensen RL, Jones CB, Jones TR, Khandaker S, King K, Kiy RT, Koukorava C, Lake A, Lant S, Latawiec D, Lavelle-Langham L, Lefteri D, Lett L, Livoti LA, Mancini M, McDonald S, McEvoy L, McLauchlan J, Metelmann S, Miah NS, Middleton J, Mitchell J, Moore SC, Murphy EG, Penrice-Randal R, Pilgrim J, Prince T, Reynolds W, Ridley PM, Sales D, Shaw VE, Shears RK, Small B, Subramaniam KS, Szemiel A, Taggart A, Tanianis-Hughes J, Thomas J, Trochu E, van Tonder L, Wilcock E, Zhang JE, Adeniji K, Agranoff D, Agwuh K, Ail D, Alegria A, Angus B, Ashish A, Atkinson D, Bari S, Barlow G, Barnass S, Barrett N, Bassford C, Baxter D, Beadsworth M, Bernatoniene J, Berridge J, Best N, Bothma P, Brealey D, Brittain-Long R, Bulteel N, Burden T, Burtenshaw A, Caruth V, Chadwick D, Chambler D, Chee N, Child J, Chukkambotla S, Clark T, Collini P, Cosgrove C, Cupitt J, Cutino-Moguel M-T, Dark P, Dawson C, Dervisevic S, Donnison P, Douthwaite S, DuRand I, Dushianthan A, Dyer T, Evans C, Eziefula C, Fegan C, Finn A, Fullerton D, Garg S, Garg S, Garg A, Godden J, Goldsmith A, Graham C, Hardy E, Hartshorn S, Harvey D, Havalda P, Hawcutt DB, Hobrok M, Hodgson L, Holme A, Hormis A, Jacobs M, Jain S, Jennings P, Kaliappan A, Kasipandian V, Kegg S, Kelsey M, Kendall J, Kerrison C, Kerlake I, Koch O, Koduri G, Koshy G, Laha S, Larkin S, Leiner T, Lillie P, Limb J, Linnett V, Little J, MacMahon M, MacNaughton E, Mankregod R, Masson H, Matovu E, McCullough K, McEwen R, Meda M, Mills G, Minton J, Mirfenderesky M, Mohandas K, Mok Q, Moon J, Moore E, Morgan P, Morris C, Mortimore K, Moses S, Mpenge M, Mulla R, Murphy M, Nagel M, Nagarajan T, Nelson M, Otahal I, Pais M, Panchatsharam S, Paraiso H, Patel B, Pepperell J, Peters M, Phull M, Pintus S, Pooni JS, Post F, Price D, Prout R, Rae N, Reschreiter H, Reynolds T, Richardson N, Roberts M, Roberts D, Rose A, Rousseau G, Ryan B, Saluja T, Shah A, Shanmuga P, Sharma A, Shawcross A, Sizer J, Smith R, Snelson C, Spittle N, Staines N, Stambach T, Stewart R, Subudhi P, Szakmany T, Tatham K, Thomas J, Thompson C, Thompson R, Tridente A, Tupper-Carey D, Twagira M, Ustianowski A, Vallotton N, Vincent-Smith L, Visuvanathan S, Vuylsteke A, Waddy S, Wake R, Walden A, Welters I, Whitehouse T, Whittaker P, Whittington A, Wijesinghe M, Williams M, Wilson L, Wilson S, Winchester S, Wiselka M, Wolverson A, Wooton DG, Workman A, Yates B, Young P (2020) Risk stratification of patients admitted to hospital with covid-19 using the ISARIC WHO Clinical Characterisation Protocol: development and validation of the 4C Mortality Score. *BMJ* 370:m3339
95. Knight SR, Gupta RK, Ho A, Pius R, Buchan I, Carson G, Drake TM, Dunning J, Fairfield CJ, Gamble C, Green CA, Halpin S, Hardwick HE, Holden KA, Horby PW, Jackson C, Mclean KA, Merson L, Nguyen-Van-Tam JS, Norman L, Olliaro PL, Pritchard MG, Russell CD, Shaw CA, Sheikh A, Solomon T, Sudlow C, Swann OV, Turtle LCW, Openshaw PJM, Baillie JK, Docherty A, Semple MG, Noursadeghi M, Harrison EM, ISARIC Coronavirus Clinical Characterisation Consortium (ISARIC4C) Investigators, ISARIC4C investigators (2022) Prospective validation of the 4C prognostic models for adults hospitalised with COVID-19 using the ISARIC WHO Clinical Characterisation Protocol. *Thorax* 77:606–615
96. Koczula KM, Gallotta A (2016) Lateral flow assays. *Essays Biochem* 60:111–120

97. Kronbichler A, Kresse D, Yoon S, Lee KH, Effenberger M, Shin JI (2020) Asymptomatic patients as a source of COVID-19 infections: A systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis* 98:180–186
98. Kumate J (1997) Infectious diseases in the 21st century. *Arch Med Res* 28:155–161
99. Lameire N, Adam A, Becker CR, Davidson C, McCullough PA, Stacul F, Tumlin J, CIN Consensus Working Panel (2006) Baseline renal function screening. *Am J Cardiol* 98:21K-26K
100. Land KJ, Boeras DI, Chen X-S, Ramsay AR, Peeling RW (2019) REASSURED diagnostics to inform disease control strategies, strengthen health systems and improve patient outcomes. *Nat Microbiol* 4:46–54
101. Lansbury L, Lim B, Baskaran V, Lim WS (2020) Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J Infect* 81:266–275
102. Lau SKP, Lau CCY, Chan K-H, Li CPY, Chen H, Jin D-Y, Chan JFW, Woo PCY, Yuen K-Y (2013) Delayed induction of proinflammatory cytokines and suppression of innate antiviral response by the novel Middle East respiratory syndrome coronavirus: implications for pathogenesis and treatment. *J Gen Virol* 94:2679–2690
103. Law HKW, Cheung CY, Sia SF, Chan YO, Peiris JSM, Lau YL (2009) Toll-like receptors, chemokine receptors and death receptor ligands responses in SARS coronavirus infected human monocyte derived dendritic cells. *BMC Immunol* 10:35
104. Lazear HM, Schoggins JW, Diamond MS (2019) Shared and Distinct Functions of Type I and Type III Interferons. *Immunity* 50:907–923
105. Lei J, Yin X, Shang H, Jiang Y (2019) IP-10 is highly involved in HIV infection. *Cytokine* 115:97–103
106. Lev S, Gottesman T, Sahaf Levin G, Lederfein D, Berkov E, Diker D, Zaidman A, Nutman A, Ilan Ber T, Angel A, Kellerman L, Barash E, Navon R, Boico O, Israeli Y, Rosenberg M, Gelman A, Kalfon R, Simon E, Avni N, Hainrichson M, Zarchin O, Gottlieb TM, Oved K, Eden E, Tadmor B (2021) Observational cohort study of IP-10's potential as a biomarker to aid in inflammation regulation within a clinical decision support protocol for patients with severe COVID-19. *PloS one* 16:
107. Levinson T, Wasserman A, Shenhar-Tsarfaty S, Halutz O, Shapira I, Zeltser D, Rogowski O, Berliner S, Ziv-Baran T (2023) Comparative analysis of CRP as a biomarker of the inflammatory response intensity among common viral infections affecting the lungs: COVID-19 versus influenza A, influenza B and respiratory syncytial virus. *Clin Exp Med* 10.1007:10238-023-01176-0
108. Li C, Hu B, Zhang Z, Qin W, Zhu Z, Zhai Z, Davidson BL, Wang C (2020) D-dimer Triage for COVID-19. *Acad Emerg Med* 27:612–613
109. Li J, Huang DQ, Zou B, Yang H, Hui WZ, Rui F, Yee NTS, Liu C, Nerurkar SN, Kai JCY, Teng MLP, Li X, Zeng H, Borghi JA, Henry L, Cheung R, Nguyen MH (2021) Epidemiology of COVID-19: A systematic review and meta-analysis of clinical characteristics, risk factors, and outcomes. *J Med Virol* 93:1449–1458
110. Li W, Moore MJ, Vasilieva N, Sui J, Wong SK, Berne MA, Somasundaran M, Sullivan JL, Luzuriaga K, Greenough TC, Choe H, Farzan M (2003) Angiotensin-

- converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature* 426:450–454
111. Li X, Geng M, Peng Y, Meng L, Lu S (2020) Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *J Pharm Anal* 10:102–108
112. Liao X, Wang B, Kang Y (2020) Novel coronavirus infection during the 2019–2020 epidemic: preparing intensive care units—the experience in Sichuan Province, China. *Intensive Care Med* 46:357–360
113. Ling L, Chen Z, Lui G, Wong CK, Wong WT, Ng RWY, Tso EYK, Fung KSC, Chan V, Yeung ACM, Hui DSC, Chan PKS (2021) Longitudinal Cytokine Profile in Patients With Mild to Critical COVID-19. *Front Immunol* 12:763292
114. Lippi G, Nocini R, Mattiuzzi C, Henry BM (2022) FebriDx for rapid screening of patients with suspected COVID-19 upon hospital admission: systematic literature review and meta-analysis. *J Hosp Infect* 123:61–66
115. Liu F, Li L, Xu M, Wu J, Luo D, Zhu Y, Li B, Song X, Zhou X (2020) Prognostic value of interleukin-6, C-reactive protein, and procalcitonin in patients with COVID-19. *J Clin Virol* 127:104370
116. Liu Y, Li T, Deng Y, Liu S, Zhang D, Li H, Wang X, Jia L, Han J, Bei Z, Li L, Li J (2021) Stability of SARS-CoV-2 on environmental surfaces and in human excreta. *J Hosp Infect* 107:105–107
117. Lohse S, Sternjakob-Marthaler A, Lagemann P, Schöpe J, Rissland J, Seiwert N, Pfuhl T, Müllendorff A, Kiefer LS, Vogelgesang M, Vella L, Denk K, Vicari J, Zwick A, Lang I, Weber G, Geisel J, Rech J, Schnabel B, Hauptmann G, Holleczeck B, Scheiblauer H, Wagenpfeil S, Smola S (2022) German federal-state-wide seroprevalence study of 1st SARS-CoV-2 pandemic wave shows importance of long-term antibody test performance. *Commun Med* 2:1–12
118. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, Wang W, Song H, Huang B, Zhu N, Bi Y, Ma X, Zhan F, Wang L, Hu T, Zhou H, Hu Z, Zhou W, Zhao L, Chen J, Meng Y, Wang J, Lin Y, Yuan J, Xie Z, Ma J, Liu WJ, Wang D, Xu W, Holmes EC, Gao GF, Wu G, Chen W, Shi W, Tan W (2020) Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* 395:565–574
119. Luster AD, Ravetch JV (1987) Biochemical characterization of a gamma interferon-inducible cytokine (IP-10). *J Exp Med* 166:1084–1097
120. Lyons DM, Lauring AS (2018) Mutation and Epistasis in Influenza Virus Evolution. *Viruses* 10:407
121. Malik P, Patel U, Mehta D, Patel N, Kelkar R, Akrmah M, Gabrilove JL, Sacks H (2021) Biomarkers and outcomes of COVID-19 hospitalisations: systematic review and meta-analysis. *BMJ Evid Based Med* 26:107–108
122. Marfè G, Tafani M, Fiorito F, Pagnini U, Iovane G, De Martino L (2011) Involvement of FOXO transcription factors, TRAIL-FasL/Fas, and sirtuin proteins family in canine coronavirus type II-induced apoptosis. *PLoS One* 6:e27313
123. Mastboim NS, Angel A, Shaham O, Ber TI, Navon R, Simon E, Rosenberg M, Israeli Y, Hainrichson M, Avni N, Reiner E, Feigin P, Oved K, Tadmor B, Singer P,

- Kagan I, Lev S, Diker D, Jarjou'i A, Kurd R, Ben-Chetrit E, Danziger G, Papan C, Motov S, Shapira M, Stein M, Klein A, Gottlieb TM, Eden E (2021) An immune-protein signature combining TRAIL, IP-10 and CRP for accurate prediction of severe COVID-19 outcome. medRxiv 2021.06.27.21259196
124. Mastboim NS, Angel A, Shaham O, Ber TI, Navon R, Simon E, Rosenberg M, Israeli Y, Hainrichson M, Avni N, Reiner E, Feigin P, Oved K, Tadmor B, Singer P, Kagan I, Lev S, Diker D, Jarjou'I A, Kurd R, Ben-Chetrit E, Danziger G, Tegethoff SA, Papan C, Motov S, Shapira M, Stein M, Gottlieb TM, Eden E, Klein A (2023) An immune-protein score combining TRAIL, IP-10 and CRP for predicting severe COVID-19 disease. *Cytokine* 169:156246
125. Mataka N, Ohmura H, Kodama T, Nakamura S, Kichikawa Y, Nishimura K, Nakai M, Nagura M, Tabata S, Miyoshi K, Sasaki H, Kawano S, Mimura S, Aono S, Ito T, Uwabe Y (2021) Myxovirus resistance protein A in peripheral blood predicts supplemental oxygen need in COVID-19. *J Infect* 82:186–230
126. McAloon C, Collins Á, Hunt K, Barber A, Byrne AW, Butler F, Casey M, Griffin J, Lane E, McEvoy D, Wall P, Green M, O'Grady L, More SJ (2020) Incubation period of COVID-19: a rapid systematic review and meta-analysis of observational research. *BMJ Open* 10:e039652
127. McArthur DB (2019) Emerging Infectious Diseases. *Nurs Clin North Am* 54:297–311
128. McGrath EE, Marriott HM, Lawrie A, Francis SE, Sabroe I, Renshaw SA, Dockrell DH, Whyte MKB (2011) TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) regulates inflammatory neutrophil apoptosis and enhances resolution of inflammation. *J Leukoc Biol* 90:855–865
129. McMichael C (2015) Climate change-related migration and infectious disease. *Virulence* 6:548–553
130. Meister TL, Fortmann J, Todt D, Heinen N, Ludwig A, Brüggemann Y, Elsner C, Dittmer U, Steinmann J, Pfaender S, Steinmann E (2021) Comparable Environmental Stability and Disinfection Profiles of the Currently Circulating SARS-CoV-2 Variants of Concern B.1.1.7 and B.1.351. *J Infect Dis* 224:420–424
131. Melo AKG, Milby KM, Caparroz ALMA, Pinto ACPN, Santos RRP, Rocha AP, Ferreira GA, Souza VA, Valadares LDA, Vieira RMRA, Pileggi GS, Trevisani VFM (2021) Biomarkers of cytokine storm as red flags for severe and fatal COVID-19 cases: A living systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 16:e0253894
132. Mistry P, Barmania F, Mellet J, Peta K, Strydom A, Viljoen IM, James W, Gordon S, Pepper MS (2021) SARS-CoV-2 Variants, Vaccines, and Host Immunity. *Front Immunol* 12:809244
133. Morens DM, Folkers GK, Fauci AS (2004) The challenge of emerging and re-emerging infectious diseases. *Nature* 430:242–249
134. Morens DM, Folkers GK, Fauci AS (2008) Emerging infections: a perpetual challenge. *Lancet Infect Dis* 8:710–719
135. Morens DM, Taubenberger JK, Fauci AS (2009) The Persistent Legacy of the 1918 Influenza Virus. *N Engl J Med* 361:225–229

136. Morens DM, Fauci AS (2013) Emerging Infectious Diseases: Threats to Human Health and Global Stability. *PLoS Pathog* 9:e1003467
137. Morzunov S, Deyde V, Abrahamyan L (2017) New Biomarkers of Innate and Adaptive Immunity in Infectious Diseases. *J Immunol Res* 2017:7047405
138. National Institute for Health and Care Excellence (NICE) (2020) COVID-19 rapid guideline: managing the long-term effects of COVID-19. National Institute for Health and Care Excellence: Clinical Guidelines, London. URL: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng188> [abgerufen am 30.08.2023]
139. Nyberg T, Ferguson NM, Nash SG, Webster HH, Flaxman S, Andrews N, Hinsley W, Bernal JL, Kall M, Bhatt S, Blomquist P, Zaidi A, Volz E, Aziz NA, Harman K, Funk S, Abbott S, Nyberg T, Ferguson NM, Nash SG, Webster HH, Flaxman S, Andrews N, Hinsley W, Lopez Bernal J, Kall M, Bhatt S, Blomquist P, Zaidi A, Volz E, Abdul Aziz N, Harman K, Funk S, Abbott S, Hope R, Charlett A, Chand M, Ghani AC, Seaman SR, Dabrera G, De Angelis D, Presanis AM, Thelwall S, Hope R, Charlett A, Chand M, Ghani AC, Seaman SR, Dabrera G, De Angelis D, Presanis AM, Thelwall S (2022) Comparative analysis of the risks of hospitalisation and death associated with SARS-CoV-2 omicron (B.1.1.529) and delta (B.1.617.2) variants in England: a cohort study. *Lancet* 399:1303–1312
140. Onakpoya IJ, Heneghan CJ, Spencer EA, Brassey J, Rosca EC, Maltoni S, Plüddemann A, Evans DH, Conly JM, Jefferson T (2022) Viral cultures for assessing fomite transmission of SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis. *J Hosp Infect* 130:63–94
141. Opferman JT, Korsmeyer SJ (2003) Apoptosis in the development and maintenance of the immune system. *Nat Immunol* 4:410–415
142. Oran DP, Topol EJ (2020) Prevalence of Asymptomatic SARS-CoV-2 Infection. *Ann Intern Med* 173:362–367
143. Oulhaj A, Alsuwaidi AR, Suliman A, Gasmelseed H, Khan S, Alawi S, Hukan Y, George J, Alshamsi F, Sheikh F, Babiker ZOE, Prattes J, Sourij H (2021) Admission levels of Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor (suPAR) are Associated with the Development of Severe Complications in Hospitalised COVID-19 Patients: A Prospective Cohort Study. *Int J Infect Dis* 107:188–194
144. Oved K, Cohen A, Boico O, Navon R, Friedman T, Etshtein L, Kriger O, Bamberger E, Fonar Y, Yacobov R, Wolchinsky R, Denkberg G, Dotan Y, Hochberg A, Reiter Y, Grupper M, Srugo I, Feigin P, Gorfine M, Chistyakov I, Dagan R, Klein A, Potasman I, Eden E (2015) A novel host-proteome signature for distinguishing between acute bacterial and viral infections. *PLoS One* 10:e0120012
145. Oved K, Eden E, Gottlieb TM (2019) Unlocking the power of the host response to improve the management of infectious diseases. *Future Microbiol* 14:1257–1259
146. Paget J, Spreeuwenberg P, Charu V, Taylor RJ, Iuliano AD, Bresee J, Simonsen L, Viboud C, Global Seasonal Influenza-associated Mortality Collaborator Network and GLaMOR Collaborating Teams\* (2019) Global mortality associated with seasonal influenza epidemics: New burden estimates and predictors from the GLaMOR Project. *J Glob Health* 9:020421
147. Palaiodimos L, Kokkinidis DG, Li W, Karamanis D, Ognibene J, Arora S, Southern WN, Mantzoros CS (2020) Severe obesity, increasing age and male sex are



- independently associated with worse in-hospital outcomes, and higher in-hospital mortality, in a cohort of patients with COVID-19 in the Bronx, New York. *Metabolism* 108:154262
148. Pan G, O'Rourke K, Chinnaiyan AM, Gentz R, Ebner R, Ni J, Dixit VM (1997) The receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *Science* 276:111–113
149. Pan G, Ni J, Wei YF, Yu G, Gentz R, Dixit VM (1997) An antagonist decoy receptor and a death domain-containing receptor for TRAIL. *Science* 277:815–818
150. Papan C, Argentiero A, Porwoll M, Hakim U, Farinelli E, Testa I, Pasticci MB, Mezzetti D, Perruccio K, Etshtein L, Mastboim N, Moscoviz E, Ber TI, Cohen A, Simon E, Boico O, Shani L, Gottlieb TM, Navon R, Barash E, Oved K, Eden E, Simon A, Liese JG, Knuf M, Stein M, Yacobov R, Bamberger E, Schneider S, Esposito S, Tenenbaum T (2021) A host signature based on TRAIL, IP-10, and CRP for reducing antibiotic overuse in children by differentiating bacterial from viral infections: a prospective, multicentre cohort study. *Clin Microbiol Infect* 28:723–730
151. Papan C, Argentiero A, Adams O, Porwoll M, Hakim U, Farinelli E, Testa I, Pasticci MB, Mezzetti D, Perruccio K, Simon A, Liese JG, Knuf M, Stein M, Yacobov R, Bamberger E, Schneider S, Esposito S, Tenenbaum T (2022) Association of viral load with TRAIL, IP-10, CRP biomarker signature and disease severity in children with respiratory tract infection or fever without source: A prospective, multicentre cohort study. *J Med Virol* 95:e28113
152. Parikh R, Mathai A, Parikh S, Chandra Sekhar G, Thomas R (2008) Understanding and using sensitivity, specificity and predictive values. *Indian J Ophthalmol* 56:45–50
153. Peine G, Proll G (2014) Multiplex platforms in diagnostics and bioanalytics. *Anal Bioanal Chem* 406:3261–3262
154. Perlman S, Netland J (2009) Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol* 7:439–450
155. Petel D, Winters N, Gore GC, Papenburg J, Beltempo M, Lacroix J, Fontela PS (2018) Use of C-reactive protein to tailor antibiotic use: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open* 8:e022133
156. Peteranderl C, Herold S (2017) The Impact of the Interferon/TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand Signaling Axis on Disease Progression in Respiratory Viral Infection and Beyond. *Front Immunol* 8:313
157. Pizarro-Cerdá J, Cossart P (2006) Bacterial adhesion and entry into host cells. *Cell* 124:715–727
158. Poggiali E, Zaino D, Immovilli P, Rovero L, Losi G, Dacrema A, Nuccetelli M, Vadacca GB, Guidetti D, Vercelli A, Magnacavallo A, Bernardini S, Terracciano C (2020) Lactate dehydrogenase and C-reactive protein as predictors of respiratory failure in CoVID-19 patients. *Clin Chim Acta* 509:135–138
159. Puhach O, Meyer B, Eckerle I (2022) SARS-CoV-2 viral load and shedding kinetics. *Nat Rev Microbiol* 21:147–161
160. Qin S, Rottman JB, Myers P, Kassam N, Weinblatt M, Loetscher M, Koch AE, Moser B, Mackay CR (1998) The chemokine receptors CXCR3 and CCR5 mark

- subsets of T cells associated with certain inflammatory reactions. *J Clin Invest* 101:746–754
161. Qiu X, Xiong T, Su X, Qu Y, Ge L, Yue Y, Zeng Y, Li W, Hu P, Mu D (2019) Accumulate evidence for IP-10 in diagnosing pulmonary tuberculosis. *BMC Infect Dis* 19:924
162. Ramos VA, Shine J, Davidovich L, McNeil J, Jianguo H, Flandrin P, Haug G, Shaha C, Brodjonegoro SS, Parisi G, Kajita T, Han M-K, Soberón SEL, Sergeev AM, Alfari A, Jansen J, Seker M, Smith A (2021) Pandemic preparedness and the role of science. S20 Academies Joint Statement. URL: <https://www.leopoldina.org/en/publications/detailview/publication/pandemic-preparedness-and-the-role-of-science-2021/> [abgerufen am 30.08.2023]
163. Raveendran AV, Jayadevan R, Sashidharan S (2021) Long COVID: An overview. *Diabetes Metab Syndr* 15:869–875
164. RECOVERY Collaborative Group (2021) Tocilizumab in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial. *Lancet* 397:1637–1645
165. Righini M, Van Es J, Den Exter PL, Roy P-M, Verschuren F, Ghuysen A, Rutschmann OT, Sanchez O, Jaffrelot M, Trinh-Duc A, Le Gall C, Moustafa F, Principe A, Van Houten AA, Ten Wolde M, Douma RA, Hazelaar G, Erkens PMG, Van Kralingen KW, Grootenboers MJH, Durian MF, Cheung YW, Meyer G, Bounameaux H, Huisman MV, Kamphuisen PW, Le Gal G (2014) Age-Adjusted D-Dimer Cutoff Levels to Rule Out Pulmonary Embolism: The ADJUST-PE Study. *JAMA* 311:1117–1124
166. Robert Koch Institut: Epidemiologischer Steckbrief zu SARS-CoV-2 und COVID-19. URL: [https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges\\_Coronavirus/Steckbrief.html?nn=13490888#doc13776792bodyText8](https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Steckbrief.html?nn=13490888#doc13776792bodyText8) [abgerufen am 20.07.2022].
167. Robert Koch Institut: SARS-CoV-2: Virologische Basisdaten sowie Virusvarianten. URL: [https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges\\_Coronavirus/Virologische\\_Basisdaten.html?nn=13490888#doc14716546bodyText8](https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Virologische_Basisdaten.html?nn=13490888#doc14716546bodyText8) [abgerufen am 30.08.2023].
168. Royal College of Physicians of London (2012) National Early Warning Score (NEWS): standardising the assessment of acute-illness severity in the NHS. Report of a working party, London: RCP
169. Safiabadi Tali SH, LeBlanc JJ, Sadiq Z, Oyewunmi OD, Camargo C, Nikpour B, Armanfard N, Sagan SM, Jahanshahi-Anbuhi S (2021) Tools and Techniques for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)/COVID-19 Detection. *Clin Microbiol Rev* 34:e00228-20
170. Sahu BR, Kampa RK, Padhi A, Panda AK (2020) C-reactive protein: A promising biomarker for poor prognosis in COVID-19 infection. *Clin Chim Acta* 509:91–94
171. Schilling J, Lehfeld A-S, Schumacher D, Diercke M, Buda S, Haas W, RKI COVID-19 Study Group (2020) Krankheitsschwere der ersten COVID-19-Welle in Deutschland basierend auf den Meldungen gemäß Infektionsschutzgesetz. *J Health Monit* 5:11

172. Schilling J, Tolksdorf K, Marquis A, Faber M, Pfoch T, Buda S, Haas W, Schuler E, Altmann D, Grote U, Diercke M (2021) Die verschiedenen Phasen der COVID-19-Pandemie in Deutschland: Eine deskriptive Analyse von Januar 2020 bis Februar 2021. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 64:1093–1106
173. Schroeder L, Amukele T, Pai M Why The World Needs An Essential Diagnostics List. URL: <https://www.forbes.com/sites/sciencebiz/2016/08/04/why-the-world-needs-an-essential-diagnostics-list/> [abgerufen am 09.07.2022]
174. Scott LJ, Redmond NM, Tavaré A, Little H, Srivastava S, Pullyblank A (2020) Association between National Early Warning Scores in primary care and clinical outcomes: an observational study in UK primary and secondary care. *Br J Gen Pract* 70:e374–e380
175. Seligman SJ, Cohen JE, Itan Y, Casanova J-L, Pezzullo JC (2014) Defining risk groups to yellow fever vaccine-associated viscerotropic disease in the absence of denominator data. *Am J Trop Med Hyg* 90:267–271
176. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A (2020) Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA* 323:2249–2251
177. Shanbhag V, Arjun NR, Chaudhuri S, Pandey AK (2021) Utility of Age-adjusted Charlson Comorbidity Index as a Predictor of Need for Invasive Mechanical Ventilation, Length of Hospital Stay, and Survival in COVID-19 Patients. *Indian J Crit Care Med* 25:987–991
178. Shang W, Dong J, Ren Y, Tian M, Li W, Hu J, Li Y (2020) The value of clinical parameters in predicting the severity of COVID-19. *J Med Virol* 92:2188–2192
179. Sharma A, Ahmad Farouk I, Lal SK (2021) COVID-19: A Review on the Novel Coronavirus Disease Evolution, Transmission, Detection, Control and Prevention. *Viruses* 13:202
180. Simmons G, Reeves JD, Rennekamp AJ, Amberg SM, Piefer AJ, Bates P (2004) Characterization of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus (SARS-CoV) spike glycoprotein-mediated viral entry. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:4240–4245
181. Simonnet A, Chetboun M, Poissy J, Raverdy V, Noulette J, Duhamel A, Labreuche J, Mathieu D, Pattou F, Jourdain M, LICORN and the Lille COVID-19 and Obesity study group (2020) High Prevalence of Obesity in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) Requiring Invasive Mechanical Ventilation. *Obesity (Silver Spring)* 28:1195–1199
182. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, Bellomo R, Bernard GR, Chiche J-D, Coopersmith CM, Hotchkiss RS, Levy MM, Marshall JC, Martin GS, Opal SM, Rubenfeld GD, van der Poll T, Vincent J-L, Angus DC (2016) The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 315:801–810
183. Singh K, Mittal S, Gollapudi S, Butzmann A, Kumar J, Ohgami RS (2021) A meta-analysis of SARS-CoV-2 patients identifies the combinatorial significance of D-dimer, C-reactive protein, lymphocyte, and neutrophil values as a predictor of disease severity. *Int J Lab Hematol* 43:324–328

184. Smilowitz NR, Kunichoff D, Garshick M, Shah B, Pillinger M, Hochman JS, Berger JS (2021) C-reactive protein and clinical outcomes in patients with COVID-19. *Eur Heart J* 42:2270–2279
185. Sophonsri A, Le D, Lou M, Ny P, Minejima E, Chambliss AB, Nieberg P, Shriner K, Wong-Beringer A (2022) Temporal Dynamics of Host Immune Response Associated With Disease Severity and Time to Recovery in Patients Hospitalized for COVID-19. *Crit Care Explor* 4:e0760
186. Soriano JB, Murthy S, Marshall JC, Relan P, Diaz JV, WHO Clinical Case Definition Working Group on Post-COVID-19 Condition (2022) A clinical case definition of post-COVID-19 condition by a Delphi consensus. *Lancet Infect Dis* 22:e102–e107
187. Sproston NR, Ashworth JJ (2018) Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. *Front Immunol* 9:754
188. Srugo I, Klein A, Stein M, Golan-Shany O, Kerem N, Chistyakov I, Genizi J, Glazer O, Yaniv L, German A, Miron D, Shachor-Meyouhas Y, Bamberger E, Oved K, Gottlieb TM, Navon R, Paz M, Etshtein L, Boico O, Kronenfeld G, Eden E, Cohen R, Chappuy H, Angoulvant F, Lacroix L, Gervais A (2017) Validation of a Novel Assay to Distinguish Bacterial and Viral Infections. *Pediatrics* 140:e20163453
189. Statista Daily Data (2023) Infografik: So entwickeln sich die Corona-Neuinfektionen. URL: <https://de.statista.com/infografik/21143/anzahl-der-taeglichen-bestaetigten-neuinfektionen-mit-covid-19-in-deutschland> [abgerufen am 30.08.2023]
190. Stegeman I, Ochodo EA, Guleid F, Holtman GA, Yang B, Davenport C, Deeks JJ, Dinnes J, Dittrich S, Emperador D, Hoof L, Spijker R, Takwoingi Y, Van den Bruel A, Wang J, Langendam M, Verbakel JY, Leeflang MM, Cochrane COVID-19 Diagnostic Test Accuracy Group (2020) Routine laboratory testing to determine if a patient has COVID-19. *Cochrane Database Syst Rev* 11:CD013787
191. Strich JR, Chertow DS (2022) Tocilizumab: A Role for Biomarker-Directed Therapy?\*. *Crit Care Med* 50:510–513
192. Suerbaum S, Hahn H (2020) Die medizinische Mikrobiologie im 21. Jahrhundert. Springer, Berlin, Heidelberg
193. Sykes DL, Holdsworth L, Jawad N, Gunasekera P, Morice AH, Crooks MG (2021) Post-COVID-19 Symptom Burden: What is Long-COVID and How Should We Manage It? *Lung* 199:113–119
194. Szliszka E, Mazur B, Zydowicz G, Czuba ZP, Król W (2009) TRAIL-induced apoptosis and expression of death receptor TRAIL-R1 and TRAIL-R2 in bladder cancer cells. *Folia Histochem Cytobiol* 47:579–585
195. Tan C, Huang Y, Shi F, Tan K, Ma Q, Chen Y, Jiang X, Li X (2020) C-reactive protein correlates with computed tomographic findings and predicts severe COVID-19 early. *J Med Virol* 92:856–862
196. Tan L, Wang Q, Zhang D, Ding J, Huang Q, Tang Y-Q, Wang Q, Miao H (2020) Lymphopenia predicts disease severity of COVID-19: a descriptive and predictive study. *Signal Transduct Target Ther* 5:33

197. Tang NL-S, Chan PK-S, Wong C-K, To K-F, Wu AK-L, Sung Y-M, Hui DS-C, Sung JJ-Y, Lam CW-K (2005) Early enhanced expression of interferon-inducible protein-10 (CXCL-10) and other chemokines predicts adverse outcome in severe acute respiratory syndrome. *Clin Chem* 51:2333–2340
198. Tao K, Tzou PL, Nouhin J, Gupta RK, de Oliveira T, Kosakovsky Pond SL, Fera D, Shafer RW (2021) The biological and clinical significance of emerging SARS-CoV-2 variants. *Nat Rev Genet* 22:757–773
199. Taubenberger JK, Kash JC (2010) Influenza virus evolution, host adaptation, and pandemic formation. *Cell Host Microbe* 7:440–451
200. Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry PA, Ng LFP (2020) The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol* 20:363–374
201. Tegethoff SA, Fröhlich F, Papan C (2022) Point-of-Care Testing in Children With Respiratory Tract Infections and Its Impact on Management and Patient Flow. *Pediatr Infect Dis J* 41:e475–e477
202. Tegethoff SA, Danziger G, Kühn D, Kimmer C, Adams T, Heintz L, Metz C, Reifenrath K, Angresius R, Mang S, Rixecker T, Becker A, Geisel J, Jentgen C, Seiler F, Reichert MC, Fröhlich F, Meyer S, Rissland J, Ewen S, Wagenpfeil G, Last K, Smola S, Bals R, Lammert F, Becker SL, Krawczyk M, Lepper PM, Papan C (2022) TNF-related apoptosis-inducing ligand, interferon gamma-induced protein 10, and C-reactive protein in predicting the progression of SARS-CoV-2 infection: a prospective cohort study. *Int J Infect Dis* 122:178–187
203. Tegethoff SA, Eisenbeis J, Danziger G, Last K, Geisel J, Rissland J, Krawczyk M, Lepper PM, Becker SL, Smola S, Papan C (2023) Evaluation of the host-response biomarker interferon- $\gamma$ -induced protein-10 in predicting SARS-CoV-2 infectiousness. *J Hosp Infect* 135:201–203
204. Tegethoff SA, Last K, Papan C (2023) Multiomics single timepoint measurements to predict severe COVID-19. *Lancet Digit Health* 5:e56
205. Telenti A, Arvin A, Corey L, Corti D, Diamond MS, García-Sastre A, Garry RF, Holmes EC, Pang PS, Virgin HW (2021) After the pandemic: perspectives on the future trajectory of COVID-19. *Nature* 596:495–504
206. Tian W, Jiang W, Yao J, Nicholson CJ, Li RH, Sigurslid HH, Wooster L, Rotter JI, Guo X, Malhotra R (2020) Predictors of mortality in hospitalized COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. *J Med Virol* 92:1875–1883
207. Tian Y, Tao T, Zhu J, Zou Y, Wang J, Li J, Bo L, Deng X (2013) Soluble tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand level as a predictor of severity of sepsis and the risk of mortality in septic patients. *PLoS One* 8:e82204
208. Tom J, Bao M, Tsai L, Qamra A, Summers D, Carrasco-Triguero M, McBride J, Rosenberger CM, Lin CJF, Stubbings W, Blyth KG, Carratalà J, François B, Benfield T, Haslem D, Bonfanti P, van der Leest CH, Rohatgi N, Wiese L, Luyt CE, Kheradmand F, Rosas IO, Cai F (2022) Prognostic and Predictive Biomarkers in Patients With Coronavirus Disease 2019 Treated With Tocilizumab in a Randomized Controlled Trial. *Crit Care Med* 50:398–409
209. Tuty Kuswardhani RA, Henrina J, Pranata R, Anthonius Lim M, Lawrensia S, Suastika K (2020) Charlson comorbidity index and a composite of poor outcomes in

- COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Metab Syndr* 14:2103–2109
210. van der Hoek L, Pyrc K, Jebbink MF, Vermeulen-Oost W, Berkhout RJM, Wolthers KC, Wertheim-van Dillen PME, Kaandorp J, Spaargaren J, Berkhout B (2004) Identification of a new human coronavirus. *Nat Med* 10:368–373
211. van der Wijst MGP, Vazquez SE, Hartoularos GC, Bastard P, Grant T, Bueno R, Lee DS, Greenland JR, Sun Y, Perez R, Ogorodnikov A, Ward A, Mann SA, Lynch KL, Yun C, Havlir DV, Chamie G, Marquez C, Greenhouse B, Lionakis MS, Norris PJ, Dumont LJ, Kelly K, Zhang P, Zhang Q, Gervais A, Le Voyer T, Whatley A, Si Y, Byrne A, Combes AJ, Rao AA, Song YS, Fragiadakis GK, Kangelaris K, Calfee CS, Erle DJ, Hendrickson C, Krummel MF, Woodruff PG, Langelier CR, Casanova J-L, Derisi JL, Anderson MS, Ye CJ, UCSF COMET consortium (2021) Type I interferon autoantibodies are associated with systemic immune alterations in patients with COVID-19. *Sci Transl Med* 13:eabh2624
212. van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, Tamin A, Harcourt JL, Thornburg NJ, Gerber SI, Lloyd-Smith JO, de Wit E, Munster VJ (2020) Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med* 382:1564–1567
213. van Houten CB, de Groot JAH, Klein A, Srugo I, Chistyakov I, de Waal W, Meijssen CB, Avis W, Wolfs TFW, Shachor-Meyouhas Y, Stein M, Sanders EAM, Bont LJ (2017) A host-protein based assay to differentiate between bacterial and viral infections in preschool children (OPPORTUNITY): a double-blind, multicentre, validation study. *Lancet Infect Dis* 17:431–440
214. Varol Y, Hakoglu B, Kadri Cirak A, Polat G, Komurcuoglu B, Akkol B, Atasoy C, Bayramic E, Balci G, Ataman S, Ermin S, Yalniz E, COVID Study Group (2021) The impact of charlson comorbidity index on mortality from SARS-CoV-2 virus infection and A novel COVID-19 mortality index: CoLACD. *Int J Clin Pract* 75:e13858
215. Volanakis JE (2001) Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Mol Immunol* 38:189–197
216. Walczak H (2013) Death Receptor–Ligand Systems in Cancer, Cell Death, and Inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 5:a008698
217. Wang CC, Prather KA, Sznitman J, Jimenez JL, Lakdawala SS, Tufekci Z, Marr LC (2021) Airborne transmission of respiratory viruses. *Science* 373:eabd9149
218. Wang L, Yang LM, Pei SF, Chong YZ, Guo Y, Gao XL, Tang QY, Li Y, Feng FM (2021) CRP, SAA, LDH, and DD predict poor prognosis of coronavirus disease (COVID-19): a meta-analysis from 7739 patients. *Scand J Clin Lab Invest* 81:679–686
219. Wang Y-H, Wu C-C, Bai C-H, Lu S-C, Yang Y-P, Lin Y-Y, Lai W-Y, Lin T-W, Jheng Y-C, Lee M-C, Chen C-C (2021) Evaluation of the diagnostic accuracy of COVID-19 antigen tests: A systematic review and meta-analysis. *J Chin Med Assoc* 84:1028–1037
220. Ward NS, Casserly B, Ayala A (2008) The compensatory anti-inflammatory response syndrome (CARS) in critically ill patients. *Clin Chest Med* 29:617–625

221. WHO Director-General (2020) WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020. URL: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020> [abgerufen am 10.07.2022]
222. Wiley SR, Schooley K, Smolak PJ, Din WS, Huang C-P, Nicholl JK, Sutherland GR, Smith TD, Rauch C, Smith CA, Goodwin RG (1995) Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis. *Immunity* 3:673–682
223. Wong CK, Lam CWK, Wu AKL, Ip WK, Lee NLS, Chan IHS, Lit LCW, Hui DSC, Chan MHM, Chung SSC, Sung JJY (2004) Plasma inflammatory cytokines and chemokines in severe acute respiratory syndrome. *Clin Exp Immunol* 136:95–103
224. Woolhouse M, Waugh C, Perry MR, Nair H (2016) Global disease burden due to antibiotic resistance – state of the evidence. *J Glob Health* 6:010306
225. World Health Organization (2022) Therapeutics and COVID-19: living guideline. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-therapeutics-2022.4> [abgerufen am 17.07.2022].
226. World Health Organization: Global Health Estimates: Life expectancy and leading causes of death and disability. URL: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates> [abgerufen am 05.07.2022]
227. World Health Organization: WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. URL: <https://covid19.who.int> [abgerufen am 30.08.2023]
228. World Health Organization: Statement on the fifteenth meeting of the IHR (2005) Emergency Committee on the COVID-19 pandemic. URL: [https://www.who.int/news/item/05-05-2023-statement-on-the-fifteenth-meeting-of-the-international-health-regulations-\(2005\)-emergency-committee-regarding-the-coronavirus-disease-\(covid-19\)-pandemic](https://www.who.int/news/item/05-05-2023-statement-on-the-fifteenth-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-coronavirus-disease-(covid-19)-pandemic) [abgerufen am 30.8.2023]
229. Wu X, Lu Y, Zhou S, Chen L, Xu B (2016) Impact of climate change on human infectious diseases: Empirical evidence and human adaptation. *Environ Int* 86:14–23
230. Wynants L, Van Calster B, Collins GS, Riley RD, Heinze G, Schuit E, Bonten MMJ, Damen JAA, Debray TPA, De Vos M, Dhiman P, Haller MC, Harhay MO, Henckaerts L, Kreuzberger N, Lohmann A, Luijken K, Ma J, Andaur Navarro CL, Reitsma JB, Sergeant JC, Shi C, Skoetz N, Smits LJM, Snell KIE, Sperrin M, Spijker R, Steyerberg EW, Takada T, van Kuijk SMJ, van Royen FS, Wallisch C, Hooft L, Moons KGM, van Smeden M (2020) Prediction models for diagnosis and prognosis of covid-19: systematic review and critical appraisal. *BMJ* 369:m1328
231. Xie J, Wang Q, Xu Y, Zhang T, Chen L, Zuo X, Liu J, Huang L, Zhan P, Lv T, Song Y (2021) Clinical characteristics, laboratory abnormalities and CT findings of COVID-19 patients and risk factors of severe disease: a systematic review and meta-analysis. *Ann Palliat Med* 10:1928949–1921949
232. Yamayoshi S, Sakai-Tagawa Y, Koga M, Akasaka O, Nakachi I, Koh H, Maeda K, Adachi E, Saito M, Nagai H, Ikeuchi K, Ogura T, Baba R, Fujita K, Fukui T, Ito F, Hattori S-I, Yamamoto K, Nakamoto T, Furusawa Y, Yasuhara A, Ujie M, Yamada S, Ito M, Mitsuya H, Omagari N, Yotsuyanagi H, Iwatsuki-Horimoto K, Imai M,

- Kawaoka Y (2020) Comparison of Rapid Antigen Tests for COVID-19. *Viruses* 12:1420
233. Yang SQ, Qu JX, Wang C, Yu XM, Liu YM, Cao B (2014) Influenza pneumonia among adolescents and adults: a concurrent comparison between influenza A (H1N1) pdm09 and A (H3N2) in the post-pandemic period. *Clin Respir J* 8:185–191
234. Yang Y, Guo L, Yuan J, Xu Z, Gu Y, Zhang J, Guan Y, Liang J, Lu H, Liu Y (2023) Viral and antibody dynamics of acute infection with SARS-CoV-2 omicron variant (B.1.1.529): a prospective cohort study from Shenzhen, China. *Lancet Microbe* 4:e632–e641
235. Yuan S, Jiang S-C, Zhang Z-W, Fu Y-F, Hu J, Li Z-L (2021) Quantification of Cytokine Storms During Virus Infections. *Front Immunol* 12:659419
236. Zandstra J, Jongerius I, Kuijpers TW (2021) Future Biomarkers for Infection and Inflammation in Febrile Children. *Front Immunol* 12:631308
237. Zawawi A, Naser AY, Alwafi H, Minshawi F (2021) Profile of Circulatory Cytokines and Chemokines in Human Coronaviruses: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Immunol* 12:666223
238. Zeng F, Huang Y, Guo Y, Yin M, Chen X, Xiao L, Deng G (2020) Association of inflammatory markers with the severity of COVID-19: A meta-analysis. *Int J Infect Dis* 96:467–474
239. Zhang L, Yan X, Fan Q, Liu H, Liu X, Liu Z, Zhang Z (2020) D-dimer levels on admission to predict in-hospital mortality in patients with Covid-19. *J Thromb Haemost* 18:1324–1329
240. Zhang Q, Bastard P, COVID Human Genetic Effort, Cobat A, Casanova J-L (2022) Human genetic and immunological determinants of critical COVID-19 pneumonia. *Nature* 603:587–598
241. Zhang Q, Pizzorno A, Miorin L, Bastard P, Gervais A, Le Voyer T, Bizien L, Manry J, Rosain J, Philippot Q, Goavec K, Padey B, Cupic A, Laurent E, Saker K, Vanker M, Särekannu K, COVID Human Genetic Effort, Etablissement Français du Sang Study Group, Constances Cohort, 3C-Dijon Study, Cerba HealthCare Group, Lyon Antigrippe Working Group, REIPI INF Working Group, García-Salum T, Ferres M, Le Corre N, Sánchez-Céspedes J, Balsera-Manzanero M, Carratala J, Retamar-Gentil P, Abelenda-Alonso G, Valiente A, Tiberghien P, Zins M, Debette S, Meyts I, Haerynck F, Castagnoli R, Notarangelo LD, Gonzalez-Granado LI, Dominguez-Pinilla N, Andreakos E, Triantafyllia V, Rodríguez-Gallego C, Solé-Violán J, Ruiz-Hernandez JJ, Rodríguez de Castro F, Ferreres J, Briones M, Wauters J, Vanderbeke L, Feys S, Kuo C-Y, Lei W-T, Ku C-L, Tal G, Etzioni A, Hanna S, Fournet T, Casalegno J-S, Queromes G, Argaud L, Javouhey E, Rosa-Calatrava M, Cordero E, Aydillo T, Medina RA, Kisand K, Puel A, Jouanguy E, Abel L, Cobat A, Trouillet-Assant S, García-Sastre A, Casanova J-L (2022) Autoantibodies against type I IFNs in patients with critical influenza pneumonia. *J Exp Med* 219:e20220514
242. Zhang Z-L, Hou Y-L, Li D-T, Li F-Z (2020) Laboratory findings of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Scand J Clin Lab Invest* 80:441–447
243. Zhou J, Wang D, Gao R, Zhao B, Song J, Qi X, Zhang Y, Shi Y, Yang L, Zhu W, Bai T, Qin K, Lan Y, Zou S, Guo J, Dong J, Dong L, Zhang Y, Wei H, Li X, Lu J, Liu L, Zhao X, Li X, Huang W, Wen L, Bo H, Xin L, Chen Y, Xu C, Pei Y, Yang Y, Zhang



- 
- X, Wang S, Feng Z, Han J, Yang W, Gao GF, Wu G, Li D, Wang Y, Shu Y (2013) Biological features of novel avian influenza A (H7N9) virus. *Nature* 499:500–503
244. Zhou J, Chu H, Li C, Wong BH-Y, Cheng Z-S, Poon VK-M, Sun T, Lau CC-Y, Wong KK-Y, Chan JY-W, Chan JF-W, To KK-W, Chan K-H, Zheng B-J, Yuen K-Y (2014) Active Replication of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus and Aberrant Induction of Inflammatory Cytokines and Chemokines in Human Macrophages: Implications for Pathogenesis. *J Infect Dis* 209:1331–1342
245. Zhu Z, Cai T, Fan L, Lou K, Hua X, Huang Z, Gao G (2020) Clinical value of immune-inflammatory parameters to assess the severity of coronavirus disease 2019. *Int J Infect Dis* 95:332–339
246. Ziesing S, Schubert S, Heim A, Vonberg R-P (2020) *Methoden der mikrobiologischen Diagnostik*. Springer, Berlin, Heidelberg
247. Zumla AI, Memish ZA (2014) Middle East respiratory syndrome coronavirus: epidemic potential or a storm in a teacup? *Eur Respir J* 43:1243–1248

## 10 Publikationen

**Tegethoff SA**,\* Danziger G,\* Kühn D, Kimmer C, Adams T, Heintz L, Metz C, Reifenrath K, Angresius R, Mang S, Rixecker T, Becker A, Geisel J, Jentgen C, Seiler F, Reichert MC, Fröhlich F, Meyer S, Rissland J, Ewen S, Wagenpfeil G, Last K, Smola S, Bals R, Lammert F, Becker SL, Krawczyk M, Lepper PM, Papan C (2022) TNF-related apoptosis-inducing ligand, interferon gamma-induced protein 10, and C-reactive protein in predicting the progression of SARS-CoV-2 infection: a prospective cohort study. *Int J Infect Dis.* 122:178-187 [\* = geteilte Erstautorenschaft]

**Tegethoff SA**,\* Fröhlich F,\* Papan C (2022) Point-of-Care Testing in Children With Respiratory Tract Infections and Its Impact on Management and Patient Flow. *Pediatr Infect Dis J.* 41:e475-e477 [\* = geteilte Erstautorenschaft]

**Tegethoff SA**, Eisenbeis J, Danziger G, Last K, Geisel J, Rissland J, Krawczyk M, Lepper PM, Becker SL, Smola S, Papan C (2023) Evaluation of the host-response biomarker interferon- $\gamma$ -induced protein-10 in predicting SARS-CoV-2 infectiousness. *J Hosp Infect.* 135:201-203

Fröhlich F, Gronwald B, Bay J, Simon A, Poryo M, Geisel J, **Tegethoff SA**, Last K, Rissland J, Smola S, Becker SL, Zemlin M, Meyer S, Papan C (2023) Expression of TRAIL, IP-10, and CRP in children with suspected COVID-19 and real-life impact of a computational signature on clinical decision-making: a prospective cohort study. *Infection.* 51:1349–1356

**Tegethoff SA**, Last K, Papan C (2023) Multiomics single timepoint measurements to predict severe COVID-19. *Lancet Digit Health.* 5:e56

Mastboim NS, Angel A, Shaham O, Ber TI, Navon R, Simon E, Rosenberg M, Israeli Y, Hainrichson M, Avni N, Reiner E, Feigin P, Oved K, Tadmor B, Singer P, Kagan I, Lev S, Diker D, Jarjou'I A, Kurd R, Ben-Chetrit E, Danziger G, **Tegethoff SA**, Papan C, Motov S, Shapira M, Stein M, Gottlieb TM, Eden E, Klein A (2023) An immune-protein score combining TRAIL, IP-10 and CRP for predicting severe COVID-19 disease. *Cytokine.* 169:156246

### 10.1 Kongressbeiträge

Tegethoff SA et al. TRAIL, IP-10, and CRP in predicting the progression of SARS-CoV-2 infection – a prospective, cohort study. Vortrag, jährliche Versammlung der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) 2022, Berlin, Germany

Tegethoff SA et al. IP-10 in der Vorhersage von SARS-CoV-2-Infektiosität. Poster, Kongress für Infektiologie und Tropenmedizin (KIT) 2023, Leipzig, Deutschland

## 11 Danksagung

Ich bedanke ich mich herzlich bei Herrn Prof. Dr. med. Dr. phil. Becker für die Ermöglichung dieser Arbeit an seinem Institut.

Meinem Betreuer und Mentor Dr. med. Cihan Papan gilt mein besonderer Dank. Beginnend bei der offenen Diskussion bezüglich der Themenfindung, der Flexibilität in Zeiten einer Pandemie, der ständigen Erreichbarkeit weit über die Arbeitszeit hinaus, bis hin zum inspirierenden und motivierenden Austausch in herzlicher Atmosphäre, konstruktiver Kritik und insgesamt herausragender Betreuung, bin ich dankbar für die Unterstützung auf meinem wissenschaftlichen Weg, auch über diese Dissertation hinaus.

Zusätzlich bedanke ich mich bei allen Teilnehmenden an der DIRECTOR-Studie und ihren Angehörigen. Großer Dank gebührt ebenfalls allen an der Studie und der Patient\*innenbetreuung beteiligten Angestellten des Universitätsklinikums, sowie allen Ko-Autor\*innen der Publikationen. Insbesondere Dr. med. Guy Danziger danke ich für die Unterstützung und Mithilfe bei der Datenbeschaffung. Ebenfalls möchte ich mich für die schnelle und ausführliche Beantwortung meiner Fragen zu statistischen Methoden bei Frau Gudrun Wagenpfeil und zu labortechnischen Vorgängen bei Herrn Tim Schmidt bedanken.

Ohne euch/Sie alle wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Zudem danke ich meinen Freund\*innen für den Rückhalt, den Austausch und auch die Ablenkungen in stressigen Zeiten. Anja Werken danke ich zusätzlich für ihre hilfreichen Tipps zu Form und Formulierungen in wissenschaftlichen Arbeiten.

Abschließend möchte ich mich bei meiner Familie bedanken, die mit mir jede Hürde gemeistert hat und mich jederzeit bedingungslos unterstützt.

## **12 Lebenslauf**

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.