

TESIS DE LA UNIVERSIDAD
DE ZARAGOZA

2021 240

Ana Lucía Figueredo Cacacho

Virus Influenza A: una
comparación entre el virus
Influenza A
H1N1PDM09 y el A
H3N2

Director/es
Bello Dronda, Salvador

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>

ISSN 2254-7606



Prensas de la Universidad
Universidad Zaragoza



Universidad
Zaragoza

Tesis Doctoral

VIRUS INFLUENZA A: UNA COMPARACIÓN ENTRE
EL VIRUS INFLUENZA A **H1N1PDM09** Y EL **A**
H3N2

Autor

Ana Lucía Figueredo Cacacho

Director/es

Bello Drona, Salvador

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA
Escuela de Doctorado

2021

TESIS DOCTORAL:

**VIRUS INFLUENZA A: UNA COMPARACIÓN ENTRE EL VIRUS INFLUENZA A
H1N1PDM09 Y EL A H3N2**

AUTOR: ANA LUCÍA FIGUEREDO CACACHO

DIRECTOR DE TESIS: DR. SALVADOR BELLO DRONDA

TUTOR DE TESIS: PROF. DR. RAFAEL BENITO RUESCA

“No es casualidad cuando la vida insiste en cruzarte con algunas personas. Algo quedó por decir, por perdonar, por sentir. Por aprender.”

El Principito.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS 5

RESUMEN 6

ABSTRACT (<i>English</i>)	8
1. INTRODUCCIÓN	10
2. JUSTIFICACIÓN	13
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	
3.1 <i>Biología del virus Influenza</i>	15
3.2 <i>Historia del virus Influenza</i>	18
3.3 <i>Población de riesgo</i>	20
3.4 <i>Diagnóstico de la influenza A</i>	21
3.5 <i>Comportamiento del virus Influenza: brotes estacionales, epidemias y pandemias</i>	24
3.6 <i>Pandemia del 2009: virus Influenza A H1N1pdm09</i>	27
3.7 <i>Fisiopatología e inmunología del virus Influenza A</i>	28
3.8 <i>Variación antigénica y cambios antigénicos mayores</i>	
32	
3.9 <i>Tratamiento de la influenza A</i>	33
3.10 <i>Vacunación antigripal</i>	35
4. MATERIAL Y MÉTODOS	
4.1 <i>Diseño del estudio y pacientes</i>	39
4.2 <i>Análisis estadístico</i>	41
4.3 <i>Objetivos del estudio</i>	42
4.3.1 <i>Objetivo general</i>	
4.3.1 <i>Objetivos específicos</i>	

4.4 Planteamiento de la hipótesis	42
4.4.1 Hipótesis nula	
4.4.2 Hipótesis alternativa	
5. RESULTADOS	44
6. DISCUSIÓN	54
7. CONCLUSIONES	61
8. ANEXOS	
8.1 Glosario de abreviaturas	62
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64

AGRADECIMIENTOS

Al Prof. Salvador Bello Drona, como director de esta Tesis Doctoral, por su supervisión y ayuda durante la realización de este trabajo, y por sembrar en mí la motivación para investigar.

Al Prof. Rafael Benito Ruesca, por su ayuda y guía durante la realización de esta

Tesis Doctoral.

A mis amigos y compañeros de trabajo (Hospital Miguel Servet y Hospital General de la Defensa de Zaragoza), por inspirarme con vuestro ejemplo. Un especial agradecimiento a Elisa Mincholé por su cariño y su colaboración en este trabajo de investigación.

A mi madre Mercedes y hermanas Alexandra y Marisol, por su cariño, preocupación y apoyo desde la distancia.

A mi padre Oscar Lionel, que aunque no podrá disfrutar en vida de este logro, le agradezco su amor, apoyo incondicional y compañía durante todos estos años de estudio.

A mi esposo José Andrés por su paciencia, ayuda y cariño brindado desde hace muchos años. Por ser mi motivación para realizarme profesionalmente y por ser un ejemplo en la actividad investigadora.

A mi hijo David, el motivo por el que me levanto todas las mañanas y por el que quiero ser mejor persona cada día. Gracias porque aún siendo tan pequeño me has enseñado mucho en estos 4 años de vida.

RESUMEN

El virus Influenza, productor de la gripe, es responsable de una morbilidad considerable en la población mundial. Aunque el virus Influenza generalmente causa una enfermedad autolimitada y leve, la morbilidad asociada a gripe se debe principalmente a complicaciones respiratorias, y puede ser causa de agudización de enfermedades crónicas como las cardiovasculares y neurológicas. Los factores de riesgo para desarrollar enfermedad grave por gripe son la edad avanzada, las

enfermedades crónicas y el embarazo, y dentro del grupo de pacientes inmunodeprimidos, los trasplantados y en tratamiento quimioterapéutico tienen una mayor predisposición de muerte. En abril del 2009, el virus Influenza A H1N1pdm09 causó la primera pandemia mundial tras 40 años, y aunque fue causa de morbimortalidad en población joven sin comorbilidades es considerada como leve. Como es habitual, el virus pandémico, tras mejorar la adaptación al ser humano incrementando su contagiosidad y disminuyendo su letalidad, ha evolucionado a virus epidémico, desplazando a uno de los 2 virus A epidémicos circulantes. Hasta el momento existen escasos estudios que comparen el comportamiento del virus Influenza A H1N1pdm09 con el otro virus epidémico circulante en la actualidad (A H3N2) en años posteriores a la pandemia del 2009. Desde el 1 de enero de 2014 hasta el 30 de abril del mismo año, a todos los pacientes mayores de 18 años que ingresaron en el Hospital Miguel Servet de Zaragoza (España) con sospecha de infección por virus Influenza se les realizó un test de Reacción en Cadena de la Polimerasa a tiempo real (RT-PCR) de frotis nasofaríngeo para la detección del virus Influenza A H1N1pdm09, A H3N2 y B. Se realizó un estudio retrospectivo observacional en aquellos con resultado positivo y que precisaron hospitalización. Se acordó el inicio de tratamiento con Oseltamivir en cuanto hubo sospecha de infección por virus Influenza hasta obtener el resultado microbiológico que confirmara la infección. El objetivo de este estudio era determinar si la severidad de la enfermedad por el virus Influenza A H1N1pdm09 es superior a la de la gripe estacional causada por el virus Influenza A H3N2 tras la pandemia ocurrida en el año 2009. Un total de 410 adultos con sospecha de gripe visitaron el servicio de Urgencias del Hospital Miguel Servet entre el 1 de enero hasta el 30 abril de 2014. De los 410 adultos, 234 fueron hospitalizados de los cuales 146 (62,4%) tenían infección por el virus Influenza A H1N1pdm09 y 88 (37,6%) por el virus Influenza A H3N2. La media de edad fue de 64 años en los pacientes con virus Influenza A H1N1pdm09 y 77 años en aquellos con virus Influenza A H3N2 ($p > 0,001$). La mayor parte (76,5%) tenía al menos una condición médica subyacente, sin existir diferencias entre los dos grupos. En el grupo de Influenza A H1N1pdm09 fue más común la presencia de neumonía, complicaciones respiratorias, ingreso en unidad de cuidados intensivos (UCI), síndrome de distrés respiratorio del adulto (SDRA), shock séptico y necesidad de ventilación mecánica invasiva (VMI). Sesenta y ocho pacientes de 234 (29%) fueron considerados como graves, es decir presentaron

complicaciones respiratorias como neumonía, necesidad de UCI, SDRA, shock séptico o necesidad de VMI. De éstos, 52 (76,5%) se asociaron a infección por Influenza A H1N1pdm09 y 16 (23,5%) a Influenza A H3N2 ($p=0,005$). Se realizó un análisis multivariante para buscar predictores independientes de gravedad. Los predictores independientes de gravedad incluyeron la ausencia de vacunación antigripal (OR, 3,086; $p=0,013$), etiología de Influenza A H1N1pdm09 (OR, 2,525; $p=0,037$) y coinfección bacteriana (OR, 2,821; $p=0,044$). Nuestro modelo con tres variables significativas (etiología, estado de vacunación y coinfección) fue capaz de predecir la gravedad en el 73,4% de pacientes, sin dificultades en el algoritmo de estimación iterativa. En el grupo de infección por virus Influenza A H1N1pdm09, se encontró enfermedad grave en el 20,8% de los pacientes vacunados y en el 38,6% de los pacientes no vacunados ($p=0,041$).

Se concluye con este trabajo que el virus Influenza A H1N1pdm09 estacional es un factor de riesgo independiente para enfermedad grave en pacientes hospitalizados, al menos durante el año 2014 tras haber transcurrido 4 años desde la pandemia. Tras este estudio, se confirma que es necesario el establecimiento de nuevas dianas de vacunación, especialmente en aquellos menores de 65 años.

ABSTRACT

The Influenza virus, flu producer, is responsible for considerable morbidity and mortality in the world population. Although the Influenza virus generally causes a self-limited and mild disease, the morbidity and mortality associated with flu is mainly due to respiratory complications, and can be the cause of exacerbation of chronic diseases such as cardiovascular and neurological. Risk factors for developing severe influenza illness are advanced age, chronic diseases, and pregnancy, and within the group of immunosuppressed patients, transplant patients and those undergoing chemotherapeutic treatment have a greater predisposition to death. In April 2009, the Influenza A H1N1pdm09 virus caused the first global pandemic after 40 years, and although it was the cause of morbidity and mortality in young people

without comorbidities, it is considered mild. As usual, the pandemic virus, after improving adaptation to humans by increasing its contagiousness and reducing its lethality, has evolved into an epidemic virus, displacing one of the 2 circulating epidemic A viruses. Until now, there are few studies that compare the behavior of the Influenza A H1N1pdm09 virus with the other currently circulating epidemic A virus (H3N2) in the years after the 2009 pandemic. From January 1 to April 30 of the same year, all patients over 18 years of age who were admitted to the Miguel Servet Hospital in Zaragoza (Spain) with suspected influenza infection underwent a real time Polymerase Chain Reaction test (RT-PCR) in the nasopharyngeal smear for the detection of Influenza A H1N1pdm09, A H3N2 and B viruses. A retrospective observational study was carried out in those with a positive result and who required hospitalization. The start of treatment with Oseltamivir was agreed as soon as there was suspicion of Influenza virus infection until obtaining the microbiological result that confirmed the infection. The objective of this study was to determine whether the severity of the disease caused by the Influenza A H1N1pdm09 virus is higher than that of the seasonal flu caused by the Influenza A H3N2 virus after the pandemic that occurred in 2009. A total of 410 adults with suspected influenza visited the Emergency Service of the Miguel Servet Hospital between January 1, 2014 and April 30, 2014. Of the 410 adults, 234 were hospitalized for obtaining a positive result, of which 146 (62,4%) were infected with the Influenza A H1N1pdm09 virus and 88 (37,6%) with the Influenza A H3N2 virus. The mean age was 64 years in the patients with Influenza A H1N1pdm09 and 77 years in those with Influenza A H3N2 ($p > 0.001$). Most of them (76,5%) had at least one underlying medical condition, with no differences between the two groups. In the Influenza A H1N1pdm09 group, the presence of pneumonia, respiratory complications, admission to an intensive care unit (ICU), adult respiratory distress syndrome (ARDS), septic shock and the need for invasive mechanical ventilation (IMV) was more common. Eight patients out of 234 (29%) were considered as severe cases, which means that they presented respiratory complications such as pneumonia, need for ICU, ARDS, septic shock or need for IMV. Of these, 52 (76,5%) were associated with Influenza A H1N1pdm09 infection and 16 (23,5%) with Influenza A H3N2 ($p = 0,005$). Multivariate analysis was performed to search for independent predictors of severity. Independent predictors of severity included absence of influenza vaccination (OR, 3,086; $p = 0,013$), etiology of Influenza A H1N1pdm09 (OR, 2,525; $p = 0,037$) and bacterial coinfection (OR, 2,821;

$p=0,044$). Our model with three significant variables (etiology, vaccination status and coinfection) was able to predict severity in 73,4% of patients, without difficulties in the iterative estimation algorithm. In the group of Influenza A H1N1pdm09, severe disease was found in 20,8% of vaccinated patients and in 38,6% of unvaccinated patients ($p=0,041$).

This study concludes that the seasonal Influenza A H1N1pdm09 virus is an independent risk factor for severe disease in hospitalized patients, at least during 2014 after 4 years since the 2009 pandemic. After this study, we confirmed that it is necessary to establish new vaccination targets, especially in those under 65 years of age.

1. INTRODUCCIÓN

Todos los años durante la temporada de gripe, el virus Influenza causa una morbimortalidad considerable en la población mundial. Aunque el virus Influenza causa una infección respiratoria generalmente autolimitada y leve, es responsable en Estados Unidos de hasta casi 50.000 muertes anuales. Generalmente, esta morbimortalidad está causada en su mayoría por la afectación del sistema respiratorio, sin embargo una parte se debe a complicaciones cardiovasculares, neurológicas o bien por agudización de una enfermedad crónica subyacente. Los factores de riesgo de enfermedad grave por el virus Influenza están bien establecidos desde la década de los 60s: edad avanzada, padecimiento de enfermedades crónicas y embarazo (Reed *et al*, 2014). Los pacientes que han sufrido un trasplante de células madre hematopoyéticas, o de órgano sólido, o bien pacientes bajo tratamiento quimioterapéutico intensivo para leucemia, son los que tienen mayor predisposición para desarrollar infección del tracto respiratorio inferior, neumonía o desenlace fatal de causa viral (Ganapathi *et al*, 2012).

Existen 4 tipos de virus Influenza: A, B, C y D. La C generalmente causa cuadros respiratorios muy leves, y la A es la más virulenta de las tres. Los virus Influenza A son los causantes de pandemias. Los subtipos se clasifican en base a dos proteínas expresadas en la superficie del virus: la H (hemaglutinina, HA) y la N (neuraminidasa, NA); existen 18 subtipos H y 11 subtipos N. Los virus Influenza A poseen un genoma formado por ARN de cadena simple y pueden evolucionar debido a mutaciones acumuladas o a través de intercambios genéticos con otros virus influenza (Fineberg, 2014). A pesar de que se ha demostrado el rol de los virus como causantes de neumonía, ya sea como patógenos únicos o copatógenos junto a las bacterias, el diagnóstico y el manejo de la neumonía viral continúa representando todo un reto. Al menos hasta la actual pandemia por SARS-CoV-2 (Covid-19), el agente viral más frecuentemente implicado como causa de neumonía es el virus Influenza, tanto A como B, y especialmente el primero como causante de brotes y epidemias durante el invierno, y ocasionalmente pandemias. Cambios mínimos en las proteínas de hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA) pueden originar una variación antigénica, justificando los brotes. Mutaciones mayores en estas dos proteínas del virus pueden desencadenar cambios antigénicos mayores, responsables de las pandemias (Ganapathi *et al*, 2012).

Con respecto a la persistencia, versatilidad, gravedad potencial, velocidad de propagación, pocos virus pueden competir contra el virus Influenza; su principal competidor es el Coronavirus. Aparte de la capacidad de propagación, la clasificación de una pandemia con respecto al grado de severidad o la gravedad de la enfermedad que ocasiona es todavía ambigua (Fineberg, 2014).

Las pandemias por el virus Influenza están reseñadas desde la Edad Media en Europa, con una media de dos a tres pandemias por siglo. Incluso se cree que Cristóbal Colón llevó la gripe a América en su segundo viaje y, muy probablemente potenciado por el transporte de cerdos desde Canarias. La primera pandemia de gripe documentada data de 1889 en Rusia, que posteriormente se expandió a Europa y África. Sin embargo, la pandemia de influenza más devastadora aconteció en 1918 conocida incorrectamente como “La Gripe Española” dado que fue el primer país en reportar los casos, al estar Europa y los Estados Unidos implicados en la I Guerra Mundial. Se calcula que durante esta pandemia un tercio de la población

mundial se infectó y murieron alrededor de 50 millones de personas (2,5% de la población mundial). Otras pandemias en los siguientes años fueron la gripe asiática en 1957 (H2N2), la gripe de Hong Kong en 1968 (H3N2) y la gripe porcina del 2009 (H1N1 pdm09) (Lüthy *et al*, 2018).

Cada año, en temporada de gripe estacional, se producen alrededor de unos 5 millones de casos de enfermedad grave y unas 500,000 muertes a nivel mundial. En abril del 2009, el virus Influenza A H1N1pdm09 causó la primera pandemia mundial tras 40 años. Esta pandemia, a diferencia de la gripe estacional, afectó a gente joven y fue causa de morbilidad en población sin comorbilidades; sin embargo es considerada como leve comparada con pandemias anteriores (Fineberg, 2014; Hayward *et al*, 2014).

Algunos estudios revelan que su mortalidad fue la misma que la gripe estacional, aunque hay dudas de estas cifras; incluso se sugiere una infraestimación por variaciones regionales. De hecho, entre el 62 y el 85% de las muertes atribuidas por el virus Influenza A H1N1pdm09 sucedieron en personas menores de 65 años, mientras que en años previos a la pandemia esta cifra únicamente alcanzaba un 19% (Radigan *et al*, 2014).

La hospitalización y casos severos también fueron superiores a los esperados en población joven, y el riesgo de complicaciones como el desarrollo de neumonía, fallo respiratorio, shock, sepsis y necesidad de cuidados intensivos en población menor de 40 años fue entre 2,5 y 4 veces más alto que en temporada de gripe estacional (Cox *et al*, 2012; Shrestha *et al*, 2011).

2. JUSTIFICACIÓN

La pandemia de influenza del 2009 causada por el virus Influenza A H1N1pdm09 es considerada como leve, especialmente cuando es comparada con las 3 pandemias previas, aunque complicaciones graves también fueron observadas. Durante la pandemia, dada la inmunidad limitada preexistente, un aumento de los casos severos y con complicaciones respiratorias era esperado. Incluso un par de estudios posteriores a la pandemia demostraron que el riesgo de neumonía o admisión en UCI/muerte era mayor comparada con los eventos severos ocurridos con la gripe estacional. Además, aunque no hay registro previo al 2009 de que la obesidad sea un factor de riesgo para complicaciones graves por la infección de gripe, durante la pandemia del 2009 la obesidad mórbida estuvo significativamente asociada a necesidad de hospitalización (Reed *et al*, 2014). Sin embargo, la inmunidad reactiva cruzada dentro de la población mayor de 60 años pudo contribuir a los relativamente bajos niveles de infección por el virus Influenza A H1N1pdm09 en los adultos mayores (Hancock *et al*, 2009). Entre el año 2010 y el 2012, aproximadamente el 50% de la población mundial había desarrollado inmunidad contra este virus (Weil *et al*, 2013), y probablemente, de forma porcentual, observando casos más severos en población mayor y con comorbilidades como sucede habitualmente con la gripe estacional (Sherbany *et al*, 2014). Sin embargo, el rango de comorbilidades asociadas a enfermedad severa no ha cambiado significativamente en los últimos años (Kidd *et al*, 2014). Algunos de estos cambios a lo largo de los años sugirieron una transición del virus Influenza A H1N1pdm09 de pandemia a más semejante al

de la gripe estacional, aunque la evidencia de este supuesto es todavía limitada (Meningher *et al*, 2014). Además, en la práctica clínica hospitalaria, una alta proporción de pacientes hospitalizados con enfermedad grave y casos fatales fueron debidas al virus Influenza A H1N1pdm09 en los años posteriores a la pandemia (2010-2011 y 2012-2013). No quedaba claro si el virus Influenza A H1N1pdm09 era más virulento que otros virus Influenza estacionales, como fue descrito durante la pandemia; en población joven, sin comorbilidades o embarazadas (Chowell *et al*, 2009; Jamieson *et al*, 2009; Kok *et al*, 2013).

La mayor parte de estudios tanto, durante la pandemia del 2009 como en años posteriores, provienen de datos de vigilancia poblacionales, incluyendo sesgos potenciales importantes. Algún otro estudio comparativo del virus Influenza A H1N1pdm09, el H3N2 y B en la misma temporada (2010-2011), no incluyó datos como estado de inmunosupresión o vacunación gripal. Sin embargo concluye que en esa temporada la Influenza A H1N1pdm09 tenía el doble de probabilidades de tener un cuadro grave en los pacientes hospitalizados que el virus Influenza A H3N2 o el virus B, incluso tras corregir por edad, comorbilidades y tratamiento antiviral (Chaves *et al*, 2013).

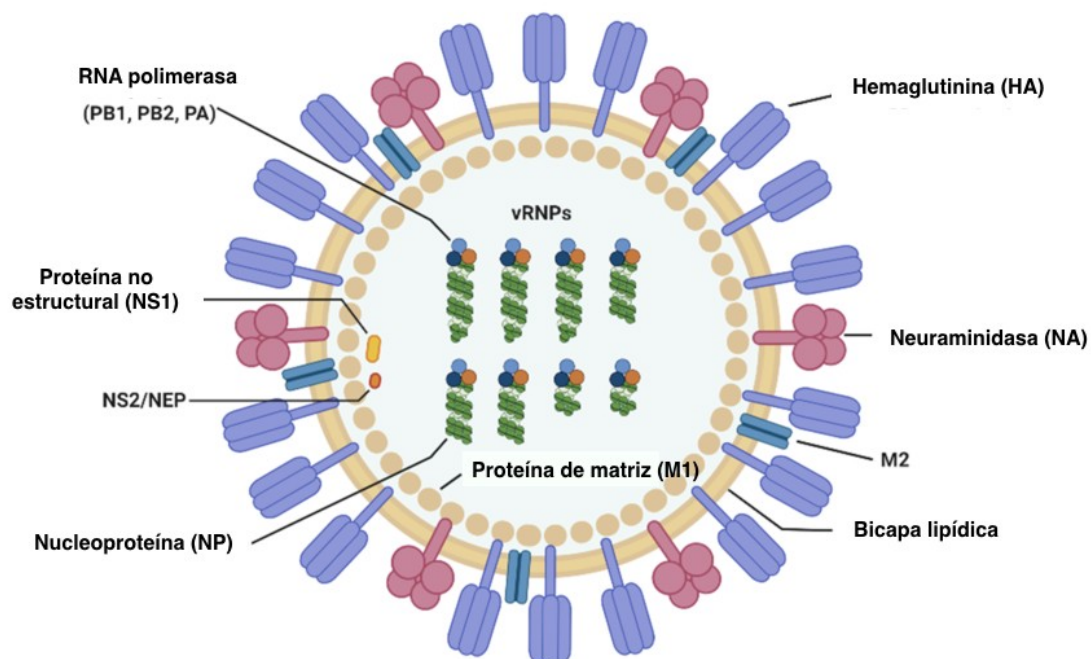
En el año 2014 saltó una alarma en nuestro hospital ya que en la primera semana epidemiológica de gripe, 6 pacientes sin comorbilidades asociadas precisaron ingreso en UCI tras el diagnóstico de infección por el virus Influenza A H1N1pdm09. Inmediatamente se acordó una búsqueda sistemática del virus Influenza A, tanto H1N1pdm09 como H3N2, en los pacientes que acudían al servicio de Urgencias ya fuera por cuadro respiratorio infeccioso o bien por agudización de su patología de base. Además, en los pacientes que se sospechó infección por el virus Influenza, se les instauró tratamiento antiviral con Oseltamivir incluso estando pendiente del resultado de RT-PCR de gripe.

El conocimiento del comportamiento de este virus y sus parámetros epidemiológicos permitirían un mejor manejo de la enfermedad y la identificación de grupos de riesgo, tanto para el tratamiento como para la vacunación.

3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA:

3.1 Biología del virus Influenza A

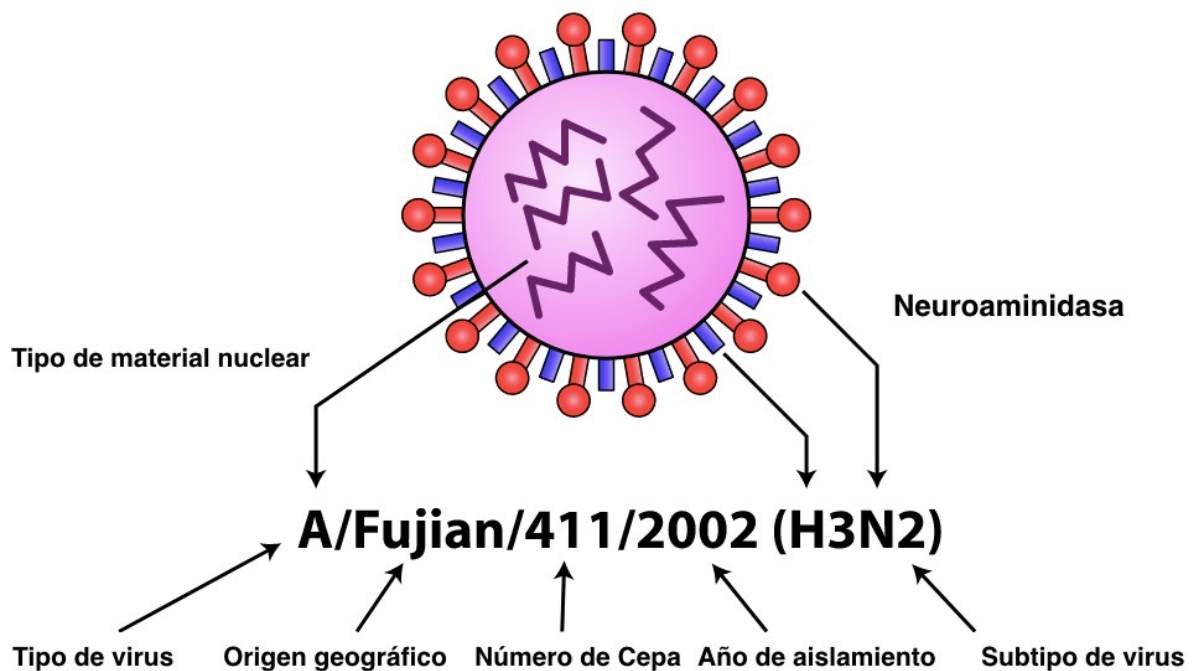
El virus Influenza no es un sólo virus, sino más bien una familia de cepas de virus que constantemente están cambiando. La familia está definida por cuatro tipos de virus, y posteriormente están divididos en subtipos o linajes. El virus Influenza tipo A y tipo B circulan en los humanos causando epidemias estacionales, y ocasionalmente desencadenan pandemias. Dada la facilidad para la mutación, distintas cepas emergen cada año con habilidad de infectar a población vulnerable (Kilbourne *et al*, 2006). El genoma del RNA segmentado de la familia del virus Influenza (Orthomyxoviridae) facilita la variabilidad antigénica (Lewnard *et al*, 2018).



Estructura del virus Influenza A. Modificada de Jung *et al*, 2020. Dominio público, Wikimedia

Commons.

La familia está categorizada en 4 tipos de virus distintivos antigénicamente: A, B, C y D. Los virus Influenza C y D no se consideran una amenaza para la salud; en humanos el virus Influenza C causa cuadros muy leves, mientras que el D es incapaz de causar infección en humanos (Bouvier *et al*, 2008). Tanto el virus Influenza A y B constan de ocho segmentos de ARN monocatenario que han sido ligados a la severidad de la enfermedad que causan; estos segmentos cumplen un rol en el reconocimiento del ARN mensajero, elongación el ARN, actividad endonucleasa y función de proteasa (Tumpey *et al*, 2005).

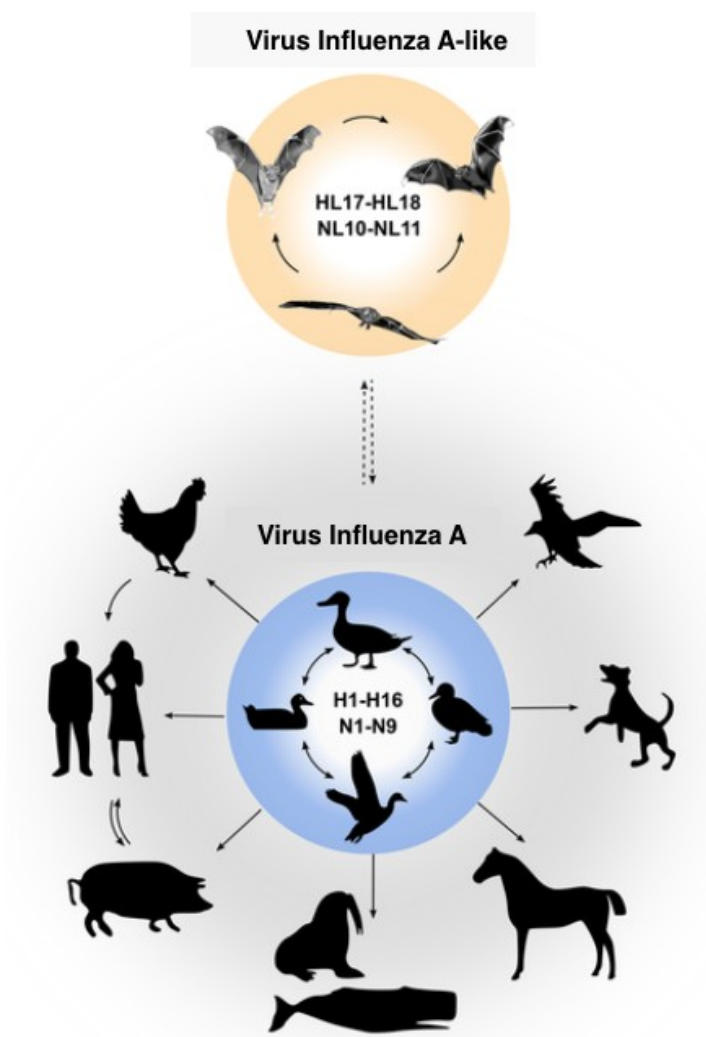


Cómo se denomina al virus Influenza A. Modificado de Sakurambo, 2018 en Wikipedia en inglés. Dominio público, Wikimedia Commons.

En el virus Influenza A, la hemaglutinina (HA) y la neuraminidasa (NA) son proteínas de superficie dominantes en donde se han concentrado los estudios inmunitarios. Para Influenza A hay 18 subtipos de hemaglutinina (HA) y 11 subtipos de neuraminidasa (NA), que combinados dan el subtipo del virus Influenza (ej. H1N1). Habitualmente, los anticuerpos tienen como diana el dominio de cabeza globular de

la HA, la cual es muy variable y con frecuencia muta (Tan *et al*, 2014).

Tanto la Hemaglutinina (HA) como la Neuraminidasa (NA) se encuentran localizadas en la membrana lipídica. La HA favorece a la unión del virus con la célula del huésped que va a ser infectada, es decir que es la que define el grado de patogenicidad del virus Influenza. Por otra parte, la NA ayuda a la entrada del virus a la célula, en donde tras varios procesos de replicación y ensamblaje, facilita la diseminación del virus (Wilschut *et al*, 2006).



Reservorios naturales del virus Influenza A. Modificado de Ma W *et al*, 2015. Dominio público, Wikimedia Commons.

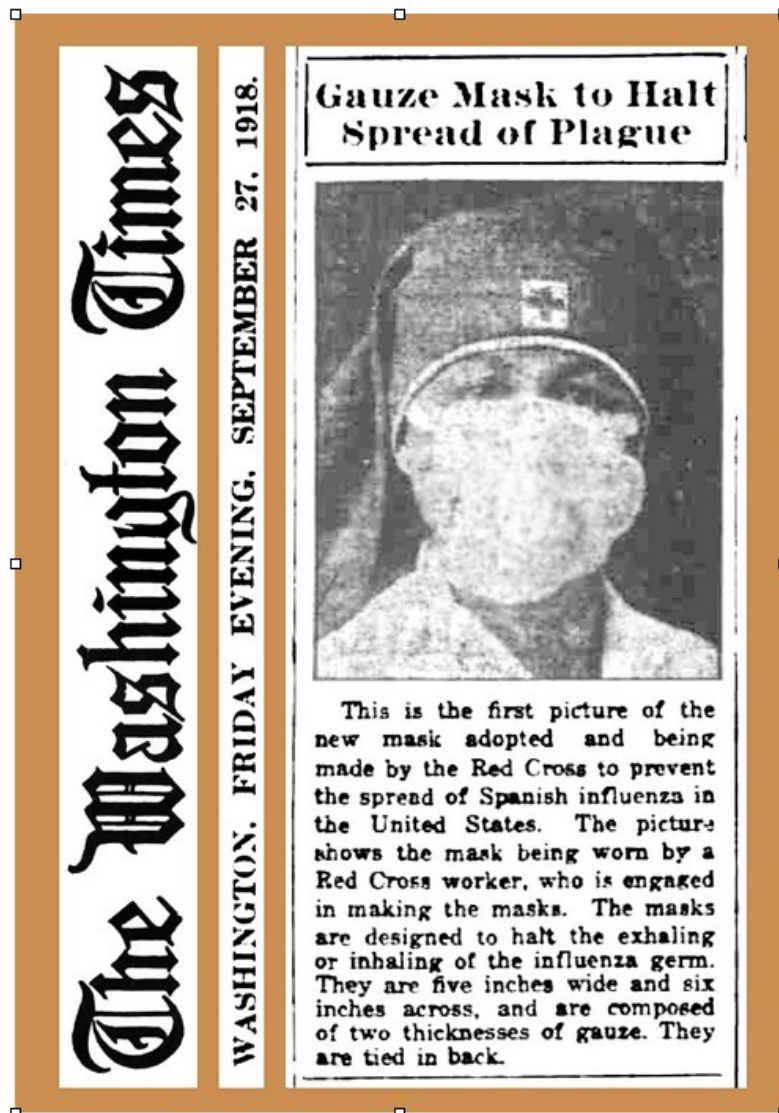
A grandes rasgos, el virus Influenza A causa principalmente una infección en aves, y probablemente sea el medio ambiente en donde se producen los sucesos de

reordenamiento continuo. El término “gripe aviar” describe a los virus Influenza tipo A, que primordialmente circulan en aves; sin embargo algunos virus de la gripe aviar reagrupados tienen la capacidad de transmitirse eficientemente a algunas especies mamíferas como los cerdos, caballos, focas y humanos. La transmisión directa de las aves a humanos es un evento raro, sin embargo los cerdos son huéspedes intermedios que ofrecen la capacidad de un reordenamiento viral para dar el salto e infectar más fácilmente a los seres humanos (Kidd, 2014).

3.2 Historia del virus Influenza A

El virus Influenza A fue identificado por primera vez como agente etiológico en 1933 poco después de la aparición del microscopio electrónico. Previamente, no se conocía cuál era el agente causante de las pandemias/epidemias de gripe. Hay datos de 6 presuntas pandemias de influenza desde 1889 y que han definido un mapa inmunológico para la raza humana (Francis *et al*, 2019). La gripe rusa en 1889 y la gripe española en 1918 acontecieron previo al descubrimiento microbiológico del virus Influenza. La causa de estas dos pandemias fueron confirmadas con estudios seroarqueológicos, sugiriendo que un virus Influenza A H3N8 fue el agente etiológico de la pandemia rusa y un H1N1 de la española (Taubenberger *et al*, 2001; Worobey *et al*, 2014). Ésta última se calcula que fue responsable de la muerte de entre 50 y 100 millones de personas en los años 1918 y 1919, considerándose la pandemia más letal de la historia humana moderna. La secuenciación del virus Influenza de la pandemia española sugiere que tenía un origen porcino y uno aviar. Tras 1918 se han introducido en la circulación humana varios virus H1N1 de fuentes zoonóticas; sin embargo el virus Influenza A H1N1 que circuló en 1957 no descendía directamente del virus H1N1 de 1918, sino de otros cambios antigénicos mayores (Worobey *et al*, 2014).

En 1968 un virus Influenza A H3N2 de origen porcino causó la pandemia de Hong Kong, a partir de allí durante 9 años fue el único virus circulante hasta que en 1977 resurgió un H1N1. A partir de entonces y hasta 2009, tanto el H3N2 como el H1N1 han estado circulando conjuntamente en la raza humana (Kilbourne *et al*, 2006; Wertheim, 2010).



Noticia publicada durante la gripe española por el Washington Times. The Washington Times (newspaper, Washington, D.C., U.S., September 27, 1918). Dominio público, Wikimedia Commons.

El virus Influenza tiene dos formas de mutación: la variación antigénica y el cambio antigénico mayor. La variación antigénica resulta de la acumulación de pequeñas mutaciones en el genoma viral provocando cambios antigénicos a lo largo del tiempo; estos cambios son los responsables de las epidemias estacionales anuales (Iwasaki *et al*, 2014).

A diferencia, el cambio antigénico mayor sucede de forma abrupta como resultado del reordenamiento de segmentos de ARN genómicos entre dos o más virus

Influenza, resultado un virus nuevo; estos cambios a su vez causan pandemias (Chen *et al*, 2009).

Los virus Influenza A son capaces de moverse entre huéspedes animales y humanos, permitiendo un alto grado de enfermedad (Tumpey *et al*, 2005).

3.3 Población de riesgo

Están claramente identificados los factores de riesgo de enfermedad grave por influenza, entre ellos la edad avanzada, padecimiento de enfermedades crónicas, especialmente las cerebrovasculares, respiratorias y cardíacas, y el embarazo y puerperio (Reed *et al*, 2014). El riesgo de mortalidad relacionada con la influenza aumenta drásticamente después de los 65 años; así también se observa un aumento de la gravedad de la enfermedad mientras mayor sea el número de comorbilidades en este grupo (Smetana *et al*, 2018).

Como consecuencia de la pandemia de Influenza A H1N1pdm09, la obesidad se identificó por primera vez como un factor de riesgo para desarrollar una enfermedad más grave y de mayor mortalidad en individuos infectados. La sobrenutrición que resulta en obesidad, causa un estado crónico de metainflamación con implicaciones sistémicas para la inmunidad. Los huéspedes obesos presentan respuestas antivirales retardadas y atenuadas a la infección por el virus Influenza, y experimentan una mala recuperación de la enfermedad (Honice *et al*, 2019).

Se ha identificado también como factor de riesgo el consumo de tabaco pasado o actual con el aumento de la admisión a la UCI debido a la infección por influenza (Godoy *et al*, 2016).

Existe evidencia previa sustancial de que los resultados de las enfermedades dependen no sólo de la causa precipitante, características del paciente y la gravedad de la enfermedad, sino también del entorno en el que los pacientes reciben atención (Adhikari *et al*, 2010; Dominguez-Cherit *et al*, 2009; Fowler *et al* 2008; Kumar *et al*, 2009). Esta es una de las razones por las cuales la valoración de la gravedad de los brotes estacionales, epidemias y pandemias puede ser todo un

reto.

3.4 Diagnóstico de la infección por el virus Influenza

El diagnóstico de la influenza debe ser considerado en pacientes críticamente enfermos ingresados con complicaciones, como la exacerbación de una enfermedad crónica subyacente, incluso fuera de la temporada gripal, pacientes con neumonía adquirida en la comunidad e insuficiencia respiratoria durante la temporada de gripe (Chow *et al*, 2019), o en aquellos en donde no se haya esclarecido la causa de la enfermedad o no exista un claro diagnóstico diferencial (Alvarez-Lerma *et al*, 2016).

Se deberá descartar infección por el virus Influenza si existe un posible vínculo epidemiológico con una persona con gripe, así como viajes a áreas con epidemia estacional en curso o exposición a un brote institucional de influenza. Se debe prestar especial atención a los pacientes ancianos e inmunodeprimidos, ya que la infección por el virus Influenza puede no presentarse con los signos y síntomas típicos de una enfermedad respiratoria aguda; pueden presentar un cuadro ausente de fiebre por ejemplo (Uyeki *et al*, 2019). El diagnóstico de infección por virus Influenza debe realizarse lo antes posible en pacientes críticamente enfermos y el inicio del tratamiento antiviral no debe demorarse mientras se esperan los resultados de las pruebas diagnósticas. Algunos estudios han informado de un aumento en la mortalidad de los pacientes de la UCI con infección por el virus Influenza A H1N1pdm09 cuando el diagnóstico se había retrasado (Alvarez-Lerma *et al*, 2016), y de una estancia hospitalaria más corta cuando el tratamiento antiviral se iniciaba dentro de las 6 horas posteriores al ingreso (Katzen *et al*, 2018).

Existen varias pruebas diagnósticas disponibles para el diagnóstico de infección por virus Influenza, con sensibilidades y especificidades variables, incluidos la inmunofluorescencia, ensayos de detección de antígenos y ensayos moleculares para detección de ácido nucleico (Reacción en Cadena de la Polimerasa [RT-PCR] positiva) que utilizan muestras del tracto respiratorio. Dentro de cada una de estas categorías, existe una amplia gama de pruebas disponibles con una precisión diagnóstica variable, por lo que comprender las limitaciones de cada herramienta diagnóstica permitirá al médico interpretar adecuadamente sus resultados. La

mayoría de los estudios sobre la precisión del diagnóstico de la influenza se han realizado con muestras de pacientes con influenza no complicada y pocos han evaluado el rendimiento de las pruebas de influenza en pacientes críticamente enfermos. Las directrices de la IDSA (*Infectious Disease Society of America*) recomiendan ensayos moleculares, en especial la Reacción en Cadena de la Polimerasa a tiempo real (RT-PCR) para analizar muestras respiratorias de todos los pacientes hospitalizados con sospecha de influenza debido a su alta sensibilidad, especificidad y corto tiempo para obtener los resultados (de 15 min a varias horas) (Uyeki *et al*, 2019). El uso de pruebas de diagnóstico molecular rápido puede mejorar y reducir la cantidad de recursos destinados a la atención de los pacientes con sospecha de influenza en los servicios de Urgencias (Wabe *et al*, 2019). La serología y el cultivo viral no se recomiendan para la toma de decisiones clínicas, especialmente por la demora de los resultados y la dificultad en la interpretación de los mismos (Uyeki *et al*, 2019).

Tipo de test	Método	Virus Influenza	Distinción entre virus	Tiempo de resultados	Desempeño
Ensayo molecular rápido	Amplificación ácido nucleico	ARN de Influenza A o B	No	15-30 min	Alta sensibilidad y especificidad
Test rápido de Influenza	Detección de antígeno	Antígenos de Influenza A o B	No	10-15 min	Baja a moderada sensibilidad, alta especificidad.
Ensayos de inmunofluorescencia directa e indirecta	Detección de antígenos	Antígenos de Influenza A o B	No	1-4 horas	Moderada sensibilidad, alta especificidad.
Ensayo molecular (RT-PCR)	Amplificación ácido nucleico	ARN de Influenza A o B	Si	1-8 horas	Alta sensibilidad y especificidad
Ensayo molecular Multiplex	Amplificación ácido nucleico	ARN Influenza A o B, otras dianas bacterianas (ARN o ADN)	Si	1-2 horas	Alta sensibilidad y especificidad
Cultivo celular rápido (mezcla celular)	Aislamiento del virus	Influenza A o B	Si	1-3 días	Alta sensibilidad y especificidad
Cultivo viral (tejido celular)	Aislamiento del virus	Influenza A o B	Si	3-10 días	Alta sensibilidad y especificidad.

Tests diagnósticos de infección por virus Influenza. Tabla traducida de Uyeki et al, 2019.

La toma de muestras de las vías respiratorias inferiores debe considerarse en pacientes hospitalizados con sospecha de influenza si las muestras de las vías respiratorias superiores son negativas y una prueba positiva daría lugar a un cambio de tratamiento clínico (Information on Rapid Molecular Assays, RT-PCR, and other Molecular Assays for Diagnosis of Influenza Virus Infection. CDC [Internet]), ya que en estos pacientes la replicación viral en las vías respiratorias inferiores puede haber evolucionado después de que el virus ya no sea detectable en el tracto respiratorio superior (Rello *et al*, 2009; Rice *et al*, 2012). Se ha demostrado que durante la pandemia del 2009, el virus Influenza A H1N1pdm09 tenía afinidad para infectar el tracto respiratorio inferior (Rello *et al*, 2009; Shieh *et al*, 2010). En pacientes hospitalizados que reciben ventilación mecánica invasiva (VMI) y en los que se sospecha influenza, pero aún no se ha diagnosticado, los test moleculares deben realizarse en muestras de aspirado endotraqueal en lugar de en las recolectadas de las vías respiratorias superiores (Information on Rapid Molecular Assays, RT-PCR, and other Molecular Assays for Diagnosis of Influenza Virus Infection. CDC [Internet]). Las pruebas moleculares, incluida la RT-PCR para los virus Influenza, también se pueden realizar en el líquido de lavado broncoalveolar (BAL) si se recolectan para las pruebas de otros patógenos. Las muestras de sangre, plasma, suero, líquido cefalorraquídeo, orina y heces tienen un rendimiento diagnóstico muy bajo y no se recomiendan para las pruebas diagnósticas de la infección por el virus Influenza (Uyeki *et al*, 2019).

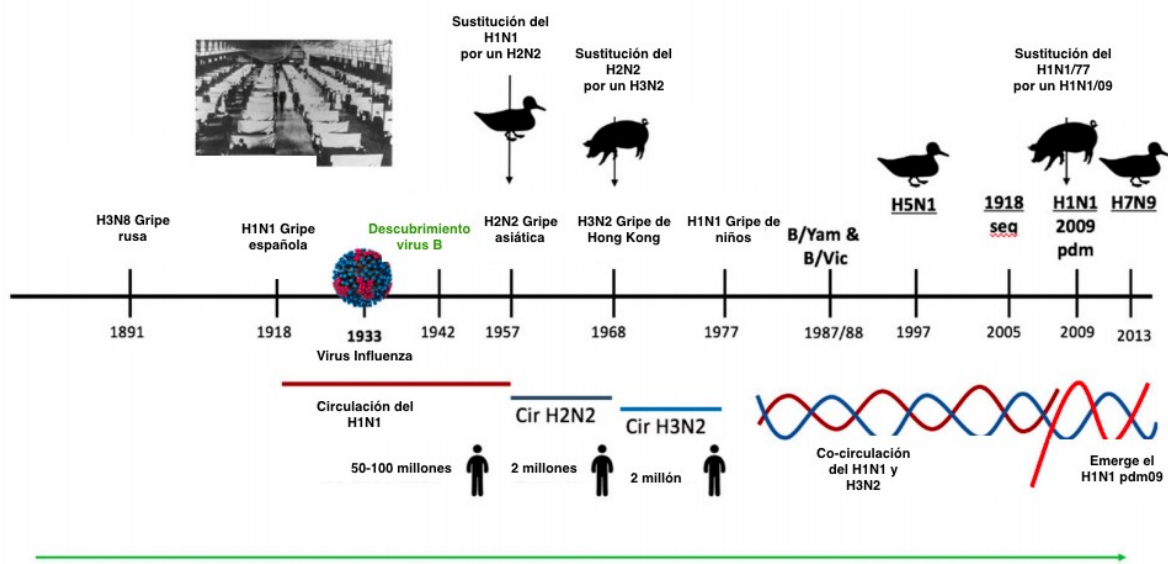
3. 5 Comportamiento del virus: brotes estacionales, epidemias y pandemias.

Existe un número de virus con potencial capacidad para producir pandemias, entre ellas el Coronavirus que en 2002 fue responsable del SARS por sus siglas en inglés (Severe Acute Respiratory Syndrome) y el SARS-CoV 2 responsable de la pandemia Covid-19 que estamos viviendo actualmente en 2020-2021; sin embargo pocos virus en término de persistencia, versatilidad, severidad y rapidez de diseminación pueden competir con el virus Influenza (Fineberg, 2014).

Los términos brote, epidemia y pandemia se utilizan para describir el

comportamiento principalmente de las enfermedades infecciosas, y se basan en la comparación del número de casos en un momento determinado con el número esperado de casos para la misma época, y cuán lejos se han extendido geográficamente los casos. Un brote ocurre cuando hay un aumento repentino en el número de personas con una afección; o también se define cuando hay más casos de lo esperado de una afección endémica o la afección se encuentra en algún lugar donde no ha estado antes, por lo que un solo caso puede ser un brote. Los brotes se limitan a áreas relativamente pequeñas. Una epidemia es un brote que se propaga a un área geográfica más grande. Una epidemia que se propaga a nivel mundial es una pandemia (Grennan, 2019).

Historia del virus Influenza A y B



Historia del virus Influenza A y B. Imagen extraída y traducida de Francis et al, 2019.

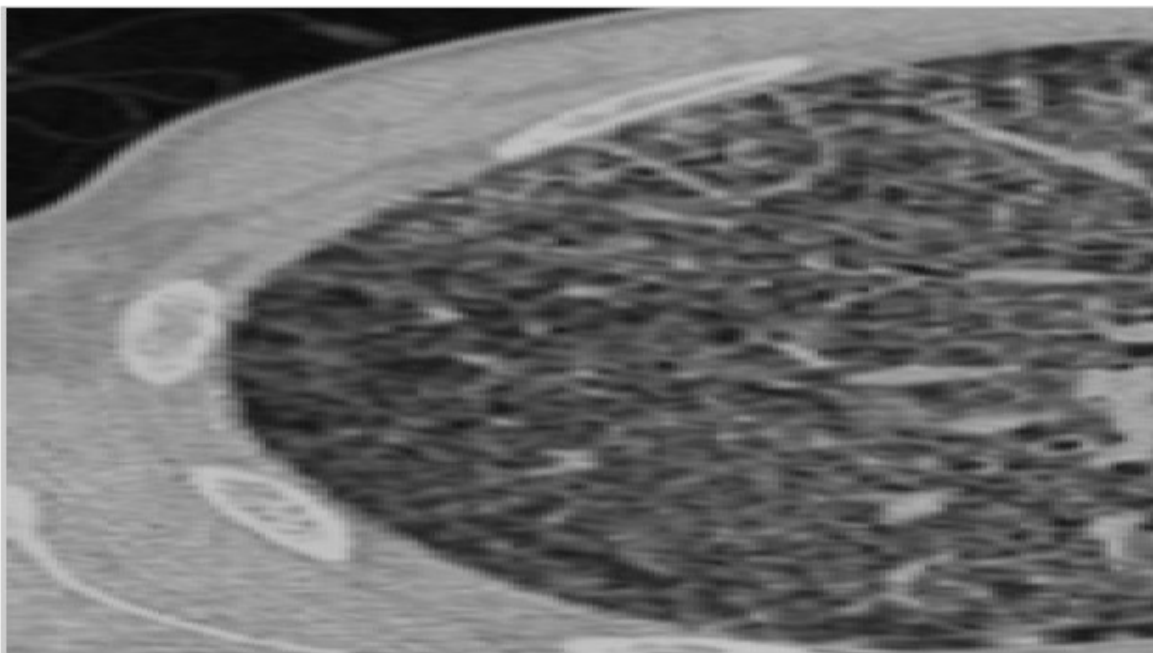
Cada año el virus Influenza infecta entre un 5% y un 15% de la población mundial, y un 30% de la población infantil (Biologicals: Influenza. WHO [Internet]). Esto sugiere que cada persona habría estado infectada o en contacto con el virus Influenza a los 4 años de edad. Dado que el ciclo del virus es anual en la población humana, y la inmunidad adquirida por una infección previa no dura toda la vida, la población está expuesta de forma recurrente (Hay *et al*, 2001). La historia inmunitaria del ser

humano es compleja debido a la exposición repetida con distintas cepas del virus Influenza y a la vacunación antigripal. En 1960 el Dr Thomas Francis Jr. sugirió que la primera exposición al virus en la vida de un ser humano puede ser deletérea en la respuesta de futuras exposiciones; esto es conocido como el “pecado original del antígeno”, u OAS por sus siglas en inglés -*Original Antigenic Sin*-. La interacción entre el sistema inmune y el patógeno es más complejo que el fenómeno OAS; es una interacción entre el sistema inmune y la dinámica de la exposición de cada virus (Francis, 1960). Algunos estudios indican que el orden de las infecciones virales y las relaciones antigénicas entre los virus tienen un impacto significativo en la población de células inmunes adaptativas o en los grupos de anticuerpos (Andrews *et al*, 2015; Fang *et al*, 2012; Miller *et al*, 2013). Se postula que el orden de la exposición al virus Influenza puede ser beneficioso o deletéreo en las infecciones subsecuentes. Incluso el primer contacto de un ser humano con el virus de la gripe es un evento tan importante que crea la mayor reserva de células de memoria inmunológica, clones de células B y T específicas y de larga duración (Gostic *et al*, 2016). Con respecto al sistema inmune humoral, el primer contacto con el virus Influenza provoca el desarrollo de anticuerpos que se dirigen hacia los epítomos virales tanto internos como los de la superficie y que permanecen presentes durante toda la vida (Hancock *et al*, 2009). La mayor parte de los anticuerpos tienen como objetivo la molécula dominante de hemaglutinina (HA), aunque otros epítomos antigénicos dominan en infecciones futuras (Cobey *et al*, 2017). La composición inmune del huésped varía en cada infección, con respecto a la especificidad del anticuerpo y la longevidad de las células B. En futuras infecciones y la respuesta inmune que ésta genere, será como respuesta tanto de la inmunidad preexistente y las características de la siguiente infección por el virus Influenza, dependiendo de la cepa, tipo o subtipo (Francis *et al*, 2019).

La neumonía relacionada al virus Influenza acontece cada año durante el otoño, invierno y primavera como consecuencia de la infección del virus Influenza estacional circulante. Las pandemias de gripe causan un número de casos descomunales y difieren de los brotes en varios factores: (1) La población entre 18 a 65 años están más afectados que en los brotes estacionales; (2) la mortalidad relacionada a neumonía por influenza está incrementada en población entre 20 y 45 años; (3) la proporción de neumonías virales es mayor que en la temporada de gripe

estacional en las que predomina la neumonía post gripal por bacterias; (4) la enfermedad por influenza ocurre fuera de la temporada de gripe; y (5) factores de riesgo específicos para enfermedad grave y mortalidad han sido reconocidos, como el embarazo y la obesidad (Ganapathi *et al*, 2012).

La gravedad de las temporadas de gripe varía de un año a otro según los virus Influenza predominantes circulantes, y entre la gripe estacional y la pandémica (Ayscue *et al*, 2014; Reed *et al*, 2014).



Tomografía de afectación bilateral pulmonar por gripe. Extraído de Manual SEPAR Neumología y Cirugía Torácica. Pueyo *et al*, 2018.

En 2017 el CDC adoptó una nueva metodología para determinar la gravedad de la temporada de influenza. Se identificaron datos de indicadores clave de la influenza para desarrollar umbrales de intensidad con el fin de clasificar la gravedad de las temporadas de gripe. Estos indicadores fueron: (1) Visitas médicas ambulatorias por enfermedad gripal; (2) hospitalizaciones relacionadas a la gripe; y (3) muertes relacionadas a gripe y neumonía. Este método tiene como fin aplicarse en las siguientes pandemias y se publicarán dichos hallazgos en un futuro (Biggerstaff *et al*, 2018).

3.6 La pandemia del 2009: Virus Influenza A H1N1pdm09

El primer caso confirmado microbiológicamente del virus Influenza A H1N1pdm09 apareció en México en febrero y marzo de 2009. Para finales de abril se habían reportado casos en varios estados de USA, Canadá, España, Reino Unido, Nueva Zelanda, Israel y Alemania. El 25 de abril, la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró una emergencia internacional de Salud Pública y el comité de emergencias pidió regulaciones al respecto. Para el 9 de junio de 2009, un total de 73 países habían reportado más de 26,000 casos confirmados, y el 11 de junio la OMS declaró la Fase 6. Un estudio observacional de 899 pacientes hospitalizados en México mostró que un 6,5% de los pacientes evolucionaron críticamente, y de ellos un 41% fallecieron. Durante esta pandemia, los niños, jóvenes adultos y embarazadas reportaron una mortalidad mayor que la habitual a la temporada de gripe estacional, probablemente por la falta de anticuerpos de población ya fallecida que si había tenido contacto con un virus parecido. Técnicamente la mortalidad es comparable con la de la gripe estacional, sin embargo dada la mortalidad en niños y gente joven, la severidad fue mayor en término de años de vida perdidos. Surge entonces la necesidad urgente de una vacuna, y 32 días después de la declaración de emergencia internacional, se desarrollan los primeros virus candidatos para la vacuna reordenada y en cuestión de semanas dichas cepas estuvieron disponibles. El grupo asesor de expertos en inmunización de la OMS publicó seguidamente las primeras recomendaciones de grupos diana para vacunación y la dosis de la misma, además de repartir más de 3 millones de tandas de tratamiento antiviral a 72 países (Fineberg, 2014).

En cuanto la epidemia fue avanzando, los datos de algunos países eran abrumadores, especialmente aquellos en los que existían limitaciones para el diagnóstico. Los datos de estos países provenían en muchas ocasiones de vigilancia epidemiológica, en lugar de estudios microbiológicos. Y a día de hoy no quedan claros muchos aspectos epidemiológicos y clínicos del virus.

3.7 Fisiopatología e inmunología de la infección por el virus influenza A

La infección por el virus Influenza se desarrolla en 3 fases: (1) la *fase de replicación*

viral en la que aparecen los síntomas gripales habituales (fiebre, astenia, mialgias, odinofagia, afectación inflamatoria de la vía aérea superior) con una duración aproximada de 3 días; (2) *la fase inflamatoria* en donde ocurre una adherencia masiva de leucocitos polimorfonucleares y eosinófilos al territorio afectado, inicio de tos, hipersecreción bronquial y disnea con una duración de 7 a 10 días; y (3) *la fase de reparación y recuperación*, que se extiende hasta casi el mes (Cisterna *et al*, 2002).

Histopatológicamente los cambios en el aparato respiratorio relacionados al virus Influenza en la infección de vía aérea baja incluye: (1) descamación del epitelio traqueobronquial, (2) dilatación de los ductos alveolares, (3) superficies alveolares cubiertas de membrana hialina, (4) hemorragia e infiltrados inflamatorios en los espacios alveolares e intersticiales (Ganapathi *et al*, 2012). Estos cambios en el epitelio traqueobronquial favorecen la sobreinfección bacteriana; los principales patógenos responsables son el *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Haemophilus influenzae*. Esta es una complicación importante de la gripe, y contribuye sustancialmente a la morbilidad y mortalidad, sobre todo en mayores de 65 años (Dolin, 2017).

Dado que el virus Influenza se transmite a través de la vía respiratoria, el lugar de inicio de la infección es el epitelio respiratorio, específicamente, las células epiteliales ciliadas pseudoestratificadas de la tráquea, los bronquios, cavidad nasal y glándulas submucosas, así como los neumocitos tipo 1 y 2 localizados en los alvéolos. Tras infectar el epitelio, el virus se disemina a los leucocitos, macrófagos, células dendríticas y células Natural Killer (NK) (Iwasaki *et al*, 2014). Las células infectadas detectan los patrones moleculares asociados al patógeno del virus (PAMPS por sus siglas en inglés) a través de los receptores de reconocimiento de patrones (PPR por sus siglas en inglés). Existen 3 familias de PPR: los receptores Toll-like (TLRs), el gen inducible por ácido retinoico (RIG-I) y los NOD-like (oligomerización de nucleótidos) (Pulendran *et al*, 2015). La estimulación de estos receptores produce liberación de interferones, citoquinas y otras proteínas inmunológicas. Estos mediadores inducen un estado antiviral, inhibiendo la diseminación viral y reclutando células inmunes específicas para el aclaramiento del virus (Iwasaki *et al*, 2014).

Los NK ayudan al aclaramiento viral a través del reconocimiento y lisis de células infectadas por el virus. Los macrófagos fagocitan las células infectadas a través de la presentación de antígeno. Las células dendríticas, como presentadoras “profesionales” de antígenos, desempeñan un papel en la vinculación de la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa (Waithman *et al*, 2012). Las células dendríticas convencionales permanecen en el epitelio respiratorio y parénquima pulmonar; el reconocimiento del virus empieza por ellas, quienes se encargan de regular los receptores CCR7 para la migración y drenaje de los ganglios linfáticos. En los ganglios linfáticos, las células dendríticas presentan el antígeno viral a las células T CD4+, T CD8+ y células B. Las células T CD4+ se diferencian entre las células Th1 y Th2 dependiendo de otras señales exógenas (polarizando citoquinas como IL-2, IL-12, IL-4) (León *et al*, 2013; Rowe *et al*, 2010).

Las células T CD8+ regulan los receptores de citoquinas para que vuelvan al pulmón a eliminar a las células infectadas por el virus, así también contribuyen en la respuesta inmune a través de la liberación de citoquinas proinflamatorias como IFN gamma, TNF- α y MIP alfa que sirven para activar cascadas inmunes adicionales. Además en el pulmón, las células T CD8+ citotóxicas matan directamente a las células infectadas tras liberar perforina y granzima o activando los receptores del TNF- α proapoptótico en la superficie de la célula diana (Hufford *et al*, 2011).

Las actividades realizadas por las células T CD8+ están dirigidas por las células epiteliales y las células dendríticas. Una vez en el pulmón, las células T CD8+ adquieren la habilidad de producir la citoquina reguladora (IL-10) inhibiendo la infiltración continua de las células T CD8+ y la actividad de las células Th17 (McKinstry *et al*, 2009; Sun *et al*, 2009). Las células T CD8+ también tienen un papel en la infección subsiguiente dado a un potencial de reactividad cruzada mayor entre cepas de virus Influenza antigénicamente divergentes, ya que estas células pueden registrar proteínas virales que se repiten en los distintos virus Influenza (Grant *et al*, 2016). A pesar de que la reactividad cruzada de las células T CD8+ no puede inhibir una nueva infección viral, si puede disminuir el tiempo de recuperación de infecciones secundarias.

La respuesta inmune del huésped es bifásica. Inicialmente, como parte de la

inmunidad innata, los genes estimuladores de interferones λ y γ actúan enérgicamente y la respuesta de citoquinas que se generaron inicialmente comienzan a apagarse hacia el séptimo día después de la inoculación, y es cuando la fase inmune adaptativa se vuelve prominente. Este es el punto de eliminación de la carga viral respiratoria y se apaga la respuesta inflamatoria que contribuye a la patogénesis pulmonar (León *et al*, 2013; Rowe *et al*, 2010).

La respuesta humoral primaria a la infección está definida por la generación de células plasmáticas de vida corta, es decir las encargadas de producir anticuerpos (Smith *et al*, 1997).

Las células B activadas maduran en plasmablastos y células plasmáticas que producen anticuerpos dirigidos a epítomos virales. Durante la primera infección por el virus Influenza, se producen y circulan un diverso y amplio grupo de anticuerpos (Henry *et al*, 2018).

Los animales han demostrado que la mayor parte de anticuerpos se dirigen hacia el dominio de cabeza de la hemaglutinina (HA) (Kirchenbaum *et al*, 2015).

Hay muchos sitios de unión antigénica y epítomos en el dominio de cabeza, y han demostrado su importante papel en la protección del huésped a través de la neutralización del virus, inhibiendo la fusión viral y favoreciendo el aclarado del virus (Bui *et al*, 2010; Monto, 2010).

En porcentajes menores, los anticuerpos se unen al dominio de tallo de la HA, neuraminidasa (NA) o proteínas internas del virus (Palese *et al*, 2011). Los anticuerpos dirigidos al dominio del tallo de la HA son ampliamente reactivos y pueden impedir la fusión de la membrana (Krammer *et al*, 2013; Neu *et al*, 2016).

La respuesta adaptativa celular y humoral tiene 3 fases: expansión, contracción y memoria. La expansión es el período de proliferación de células T y B específicas de antígeno. En la fase de contracción, las células inmunes adaptativas disminuyen hasta que quedan únicamente un número seleccionado de células altamente específicas para vigilancia inmune. En la fase de memoria se conforma con un

grupo células específico que establecen una protección a largo plazo para infecciones secundarias (Sun *et al*, 2010).

3.8 Variación antigénica y cambios antigénicos mayores

En general los virus, incluidos los de la Influenza, pueden modificarse de dos maneras diferentes. Como ya se ha dicho, una forma es la *variación antigénica*, en la cual pequeños cambios o mutaciones en los genes de los virus Influenza pueden dar lugar a modificaciones en las proteínas de la superficie del virus, específicamente en la HA o NA. La HA y la NA constituyen la parte del virus que puede ser reconocida por el sistema inmune, es decir la porción antigénica con capacidad de desencadenar la producción de anticuerpos por parte del huésped. Estos cambios ocurren constantemente a medida que el virus se reproduce, haciendo que el virus se modifique pero que aún así mantenga una relación cercana con su precursor. En general estas variaciones antigénicas hacen que los virus Influenza estén estrechamente relacionados y compartan las mismas propiedades antigénicas; característica muy útil para la producción de vacunas. Así también esta similitud antigénica permite que los anticuerpos producidos con un virus, probablemente reconozcan y respondan ante otro virus Influenza antigénicamente similar; esto se conoce como protección cruzada.

Estos cambios asociados a la variación antigénica pueden acumularse con el paso del tiempo, haciéndolo antigénicamente y filogenéticamente distinto; o bien el cambio puede ser único pero suceder en un lugar clave dando origen a una variación antigénica. Cuando ocurre una variación antigénica, el sistema inmunitario del huésped es posible que no reconozca al virus, impidiéndole defenderlo contra esta nueva infección. Y esta es la razón por la cual las personas pueden contraer el virus Influenza más de una vez en la vida, y motivo por el cual debe revisarse y actualizarse la composición de la vacuna contra la influenza todos los años para mantener una correspondencia con los virus circulantes.

El otro tipo de alteración viral es el *cambio antigénico mayor* que consiste en una variación abrupta del virus Influenza A que da lugar a una nueva porción HA y/o NA, o bien nuevas proteínas de la HA. Este cambio puede originar un nuevo subtipo de

Influenza A, en algún caso sucede un cambio en sentido único y un virus de una población animal adquiere la capacidad de infectar a la población humana. La modificación de la porción HA o NA puede ser tan diferente al subtipo humano, que la mayoría de personas no tiene inmunidad contra este virus. El cambio antigénico mayor es el responsable de las pandemias y ocurre con poca frecuencia; la última aconteció en 2009 cuando surgió un virus H1N1 (A H1N1pdm09) con material genético porcino, aviar y humano. El virus Influenza B no experimenta este tipo de modificaciones y cambian sólo mediante un proceso más gradual de variación antigénica siendo prácticamente imposible desencadenar una pandemia (Cómo puede mutar el virus de la influenza: variaciones antigénicas menores y mayores. CDC [Internet]).

3.9 Tratamiento de la influenza A

El tratamiento de la influenza grave presenta múltiples desafíos. El pilar de la terapia para los pacientes con influenza es el inicio de la medicación antiviral lo antes posible después del inicio de la enfermedad (Uyeki *et al*, 2019). Aunque los estudios han demostrado un mayor beneficio clínico cuando los antivirales se inician dentro de los 2 días posteriores al inicio de los síntomas, algunos estudios observacionales han demostrado beneficio clínico de los inhibidores de la neuraminidasa (INA) cuando se inician hasta 5 días después del inicio de los síntomas (Katzen *et al*, 2019; Lee *et al*, 2010; Louie *et al*, 2012; Siston *et al*, 2010).

A pesar de una amplia lista de tratamientos antivirales para la influenza, en la actualidad en España únicamente está autorizado el uso de los inhibidores de la neuraminidasa (INA), como el Oseltamivir y en Zanamivir, y virustáticos, como la Amantadina y Rimantadina (sensibles únicamente contra influenza A). Los INA tienen un efecto contra los virus Influenza A y B. En general, los INA y otros antivirales contra la influenza están aprobados por la FDA para el tratamiento temprano de la gripe no complicada en pacientes ambulatorios según los ensayos clínicos aleatorizados controlados con placebo realizados entre pacientes ambulatorios previamente sanos (Chow *et al*, 2019). Los metanálisis de ensayos clínicos aleatorizados controlados con placebo del tratamiento temprano de la influenza con Oseltamivir en pacientes ambulatorios pediátricos y adultos han

reportado un beneficio clínico en la reducción de la duración de la enfermedad y el riesgo de algunas complicaciones asociadas con la influenza (Dobson *et al*, 2015; Malosh *et al*, 2018).

Estudios observacionales han reportado que el tratamiento antiviral con un inhibidor de la neuraminidasa (INA) en pacientes adultos con influenza críticamente enfermos se asocia con un beneficio en la supervivencia. Dado que el inicio más temprano del tratamiento antiviral está asociado con el mayor beneficio clínico, la dosis estándar de Oseltamivir (75 mg dos veces al día en adultos, ajustable en caso de insuficiencia renal) para administración entérica, se recomienda administrar lo antes posible ya que se absorbe bien en pacientes críticamente enfermos. Los datos sobre la dosificación óptima y la duración del tratamiento con inhibidores de la neuraminidasa son limitados en pacientes con influenza en estado crítico. No se recomienda el uso de Zanamivir inhalado en pacientes críticamente enfermos debido a la falta de datos en pacientes hospitalizados y al riesgo de broncoespasmo en pacientes con enfermedad pulmonar subyacente (Chow *et al*, 2019). Los estudios también sugieren que el aumento de la dosis de Oseltamivir no proporciona un beneficio clínico adicional en adultos obesos, incluida la obesidad extrema (IMC > 40) (Pai *et al*, 2011; Thorne-Humphrey *et al*, 2011).

Una reducción del riesgo de mortalidad del tratamiento con INA versus ningún tratamiento fue del 28% para pacientes críticamente enfermos de ≥ 16 años; aunque se identificó una reducción similar en la mortalidad en niños críticamente enfermos menores de 16 años, el resultado no fue estadísticamente significativo (Muthuri *et al*, 2014) y probablemente no tuvo el poder estadístico suficiente porque la muerte es menos común en los niños hospitalizados con influenza que en los adultos.

No se han completado ensayos clínicos aleatorizados sobre el tratamiento adyuvante con corticosteroides en pacientes con influenza (Chow *et al*, 2019). Durante la pandemia del virus Influenza A H1N1 pdm09, un estudio en China informó que la administración de glucocorticoides parenterales dentro de las 72 horas del inicio de la enfermedad triplicó el riesgo de desarrollar una enfermedad crítica o muerte por infección por el virus Influenza A H1N1pdm09 (Han *et al*, 2011).

Un nuevo análisis de los datos recopilados prospectivamente sobre 1.846 pacientes ingresados con neumonía primaria por influenza en 148 UCI en España durante 2009-2014 concluyó que el uso de corticosteroides se asoció significativamente con la mortalidad en la UCI (Moreno *et al*, 2018).

Las direcciones futuras para el tratamiento de la influenza en pacientes críticamente enfermos incluyen nuevos compuestos antivirales, tratamiento antivírico combinado con otros con diferentes mecanismos de acción, agentes inmunomoduladores, terapias multimodales, antivirales combinados e inmunomoduladores dirigidos al huésped (Chow *et al*, 2019).

3.10 Vacunación antigripal

La vacunación es la principal estrategia para la prevención de la influenza. En la mayor parte de las temporadas, la vacuna es efectiva en la prevención de casos leves ambulatorios (Fielding *et al*, 2011; Jiménez-Jorge *et al*, 2012; Kissling *et al*, 2011; Osterholm *et al*, 2012; Pebody *et al*, 2013; Pelat *et al*, 2011; Simpson *et al*, 2010; Skowronski *et al*, 2009), hospitalizaciones asociadas a la gripe (Castilla *et al*, 2012; Cheng *et al*, 2011; Domínguez *et al*, 2012; Emborg *et al*, 2011; Hellenbrand *et al*, 2012; Puig-Barberà *et al*, 2012; Talbot *et al*, 2011) y cualquier caso que precise atención médica debido a infección por influenza (Belongia *et al*, 2009; Eisenberg *et al*, 2008; Ortqvist *et al*, 2011; Szilagyi *et al*, 2008; Treanor *et al*, 2012). La prevención de la gripe puede evitar casos graves y las muertes debidas a esta infección, y la vacunación también parece contribuir en la reducción de complicaciones derivadas de la infección por influenza. Incluso el estudio de Castilla *et al* sugiere que la vacunación gripal podría ser más efectiva en la prevención de los casos graves que en la prevención de los leves (Castilla *et al*, 2013). Un estudio sobre pacientes ingresados en UCI informó que se redujo a la mitad el número de días de hospitalización en pacientes de 50 a 64 años que habían recibido la vacuna contra la influenza en comparación con los pacientes no vacunados (Arriola *et al*, 2015).

La mayoría de las vacunas están preparadas con virus inactivados cultivados en huevo y algunas de ellas contienen adyuvantes para potenciar su inmunogenicidad, especialmente para la población inmunodeprimida o en edad avanzada (De Juanes

et al, 2010). Existen vacunas inyectables compuestas por los antígenos de superficie de virus de la gripe cultivados en huevo, con adyuvante MF59C.1, autorizadas para su administración a personas ≥ 65 años. El adyuvante promueve, potencia y acelera la respuesta inmunitaria a nivel de las células inmunes y de las citocinas, lo que permite que la vacuna induzca una mayor tasa de seroconversión. Además, confieren protección frente a cambios menores de las cepas vacunales (Pellegrini *et al*, 2009). Las células dendríticas situadas en la dermis juegan un papel fundamental como células presentadoras de antígeno, buscando una respuesta inmunogénica mayor (De Juanes *et al*, 2010).

Personas de edad igual o mayor de 65 años	-
Personas menores de 65 años que presentan alto riesgo de complicaciones por gripe	<p>Niños mayores de 6 meses o adultos con :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Enfermedades crónicas cardiovasculares (excluyendo hipertensión arterial aislada). • Enfermedades pulmonares. • Enfermedades metabólicas como la diabetes mellitus. • Obesidad mórbida. • Insuficiencia renal. • Hemoglobinopatías y anemias. • Asplenia. • Enfermedad hepática crónica. • Enfermedades neuromusculares graves. • Inmunosupresión de cualquier índole. • Implante coclear. • Trastornos y enfermedades con disfunción cognitiva. • Residentes de instituciones cerradas. • Tratamiento crónico con ácido acetilsalicílico. • Mujeres embarazadas (cualquier trimestre).
Personas que pueden transmitir la gripe a un grupo de alto riesgo	<ul style="list-style-type: none"> • Trabajadores de centros sanitarios. • Trabajadores de instituciones geriátricas o centros de atención de enfermos crónicos. • Personas que proporcionan cuidados de ancianos o enfermos crónicos. • Convivientes de personas de alto riesgo.
Otros grupos en los que se recomienda la vacunación	<ul style="list-style-type: none"> • Fuerzas y cuerpos de seguridad del Estado. • Bomberos. • Servicios de protección civil. • Personas que trabajen en servicios de emergencias sanitarias. • Trabajadores de instituciones penitenciarias

Indicaciones de la vacunación antigripal. Ministerio de Sanidad España (Recomendaciones de vacunación actuales acordadas en el Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud -CISNS- [Internet]).

Además de las recomendaciones españolas (Recomendaciones de vacunación actuales acordadas en el Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud -CISNS- [Internet]), el CDC recomienda vacunación a toda la población por encima

de 6 meses de edad. La vacunación anual contra la influenza está indicada en la población susceptible de forma rutinaria en todos los países desarrollados. Esta vacunación anual es necesaria debido a la variación antigénica que se produce en la HA del virus Influenza, permitiendo que el virus eluda la respuesta inmune generada de la temporada anterior (Pica *et al*, 2013). A pesar de los beneficios de la vacunación contra la influenza, sigue habiendo una baja cobertura vacunal entre los adultos ingresados en la UCI que a menudo tienen una alta prevalencia de comorbilidades de alto riesgo (Catania *et al*, 2014; Taylor *et al*, 2016).

Estudios han destacado específicamente la indicación de vacunación en aquellos con enfermedades crónicas pulmonares, cardiovasculares, renales, trastornos hepáticos, neurológicos, hematológicos o metabólicos, personas inmunodeprimidas, niños menores de 5 años y adolescentes que reciben tratamiento que contenga aspirina o salicilato, población en riesgo de experimentar el síndrome de Reye con la infección por el virus Influenza, y quienes están extremadamente obesos (IMC > 40) tienen un mayor riesgo de complicaciones relacionadas con la influenza (Blanton *et al*, 2012; Mertz *et al*, 2013; Mulloly *et al*, 2007; Van Kerkhove *et al*, 2011; Wong *et al*, 2013).

La obesidad es un factor de riesgo para el desarrollo de infecciones, y durante la pandemia del virus A H1N1pdm09 fue la condición más frecuentemente observada en los casos fatales. Los modelos animales confirman lo anterior, observando también una disminución de la respuesta inmune en ratones obesos. El virus Influenza inactivado es el principal componente de las vacunas convencionales, y de forma habitual induce una respuesta inmune antígeno-específica; sin embargo estas vacunas han sido desarrolladas para una población ordinaria. Kim *et al* sugiere en su estudio que la vacunación contra Influenza A H1N1pdm09 en ratones obesos es menos efectiva, hecho justificado por una respuesta inmune deplecionada que aconsejaría una vacuna especial para la población obesa (Kim *et al*, 2012).

En estos últimos años se está intentando el desarrollo de una vacuna universal para la gripe, que estimularía la inmunidad hacia porciones críticas del virus, como la porción *tallo* de la HA, la proteína de la matriz interna M2 o una combinación de sitios de unión; esta vacuna podría ser efectiva contra nuevas pandemias y para los

virus estacionales e incluso podría tener una duración mayor a un año (Pica *et al*, 2013). Uno de los principales problemas de la vacunación contra el virus Influenza durante las pandemias, es la necesidad de producción suficientemente rápida del antígeno para la campaña de vacunación (Kidd *et al*, 2014).

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4. 1 Diseño del estudio y pacientes

Desde el 1 de enero de 2014 hasta el 30 de abril del mismo año, a todos los pacientes mayores de 18 años que ingresaron en el Hospital Miguel Servet de Zaragoza (España) con sospecha de infección por influenza se les realizó un frotis nasofaríngeo (RT-PCR) para la detección del virus Influenza A H1N1pdm09, A H3N2 y B. Entonces, se desarrolló un protocolo de emergencia en nuestro hospital, y todos los pacientes fueron sometidos al mismo procedimiento diagnóstico y terapéutico. Se realizó un estudio retrospectivo observacional en aquellos con resultado positivo para cualquiera de los virus Influenza antes reseñados.

Un caso de hospitalización por el virus Influenza incluíble en el estudio fue definido como cualquier adulto mayor de 18 años ingresado por sospecha de infección gripal y un test de RT-PCR para gripe positivo. La sospecha de infección por virus Influenza incluía cualquiera de las siguientes condiciones: (1) fiebre y síntomas respiratorios de inicio agudo; (2) fiebre y exacerbación de enfermedad respiratoria crónica; (3) adulto mayor con empeoramiento o aparición de síntomas respiratorios, incluida la exacerbación de insuficiencia cardiaca congestiva, alteración mental, con o sin fiebre; (4) adulto severamente enfermo con fiebre o hiponatremia.

En el protocolo de nuestro hospital se acordó la realización de un frotis nasofaríngeo (RT-PCR) en el Servicio de Urgencias en las primeras 6 horas tras la llegada del paciente al hospital, y el inicio de tratamiento con Oseltamivir en cuanto había sospecha de infección por influenza. El diagnóstico de gripe se confirmaba con un resultado positivo de RT-PCR. Se utilizó un test de RT-PCR rápida en tiempo real:

GeneXpert Flu Assay, Cepheid, Sunnyvale, California, USA.

El protocolo también incluía la recogida de datos demográficos, comorbilidades, antecedentes médicos, antecedente de vacunación antigripal, curso clínico, análisis de laboratorio, estudio radiográfico simple de tórax, tratamiento y resultados. Si parte de la información del paciente no estaba disponible, se procedió a la revisión de la historia clínica y contactando telefónicamente con el paciente o familiar tras el alta hospitalaria. La determinación de PCR (proteína C reactiva) y PCT (procalcitonina) fue obtenida de la primera extracción de sangre del paciente.

Un paciente era catalogado de obesidad cuando obtenía un valor de índice de masa corporal (IMC) superior a 30 Kg/m². El estado de inmunosupresión incluyó a pacientes con deficiencia de inmunoglobulinas, neoplasias con tratamiento activo, trasplante, infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)/ síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), o tratamiento crónico con corticosteroides (por arriba de 20 mg de Prednisona/día). La fecha de vacunación antigripal fue obtenida de la historia clínica o recogida por vía telefónica.

El diagnóstico de neumonía adquirida en la comunidad (NAC) fue basado en los criterios de la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (IDSA por sus siglas en inglés- *Infectious Disease Society of America*) y por las guías de la Sociedad Americana del Tórax (ATS por sus siglas en inglés - *American Thoracic Society*). La severidad de la neumonía se clasificó en base a los criterios PSI (*Pneumonia Severity Index* por sus siglas en inglés) y CURB65.

Enfermedad severa fue definida por la presencia de uno de los siguientes criterios: (1) neumonía multilobar o bilateral, (2) shock séptico, (3) ingreso en unidad de cuidados intensivos (UCI), (4) necesidad de ventilación mecánica invasiva (VMI), (5) síndrome de distrés respiratorio agudo del adulto (SDRA), y (6) muerte intrahospitalaria.

Las complicaciones respiratorias fueron definidas por la presencia de al menos una de las siguientes: (1) fallo ventilatorio, (2) neumonía, (3) síndrome de distrés respiratorio del adulto (SDRA), (4) otros (tromboembolia pulmonar, neumotórax,

agudización de su enfermedad pulmonar obstructiva crónica y agudización asmática).

La coinfección fue definida cuando cualquier bacteria potencialmente patogénica, era aislada en cultivo de sangre, cultivo respiratorio de alta calidad (esputo, aspirado bronquial o BAL), o antigenuria positiva.

Se consideraron pacientes de alto riesgo a aquellos con una edad superior de 65 años, con comorbilidades, obesidad y embarazo.

Todas las vacunas que circularon en España durante la temporada 2013-2014 eran trivalentes y contenían un virus Influenza B y dos virus Influenza A (A/California/7/2009 (H1N1)pdm09 y un a A/Victoria/361/2011 (H3N2).

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación Clínica de Aragón (CEICA). No se realizó consentimiento informado a los pacientes dado que el estudio fue retrospectivo. La información y datos de los pacientes se anonimizaron y se anuló su identificación antes del análisis.

4. 2 Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo para unificar los datos demográficos de los pacientes y las características clínicas tales como el sexo, la edad, antecedente de enfermedades y condiciones crónicas, el tipo y subtipo de infección por el virus Influenza, duración de la estancia hospitalaria, ingreso en unidad de cuidados intensivos (UCI), ventilación mecánica invasiva (VMI) y otras. Las variables categóricas se compararon mediante la prueba de la χ^2 o la prueba exacta de Fisher donde fue necesario. Las variables cuantitativas fueron analizadas utilizando la prueba t o la prueba U de Mann-Whitney. Previamente, la distribución de los datos fue analizada utilizando el test de Kolmogorov-Smirnov.

Se efectuó un análisis de regresión multivariable para determinar si el tipo y subtipo del virus Influenza era un predictor independiente de severidad y para determinar otros posibles factores clínicos para tener riesgo de severidad. Otras variables

conocidas por su capacidad de confusión como la edad, la presencia de comorbilidades, antecedente de vacunación antigripal y días desde el inicio de los síntomas, así como como aquellos factores asociados a la severidad de la enfermedad en el análisis univariable ($p < 0,05$) (tipo y subtipo de virus, coinfección y embarazo) fueron incluidos en el modelo de regresión multivariable. Fue considerado estadísticamente significativo una p menor de 0,05. El modelo diagnóstico para el análisis de regresión fue comprobado mediante la prueba de Hosmer y Lemeshow.

4.3 *Objetivos*

4.3.1 Objetivo general:

Determinar si la severidad de la enfermedad por el virus Influenza A H1N1pdm09 es superior a la de la gripe estacional causada por el virus Influenza A H3N2 tras la pandemia ocurrida en el año 2009 (virus Influenza A H1N1pdm09).

4.3.2 Objetivos específicos:

Determinar si existen factores de riesgo específicos para desarrollar enfermedad grave por infección del virus Influenza A H1N1pdm09 estacional.

Identificar nuevas dianas de vacunación antigripal en la población.

4.4 *Planteamiento de la hipótesis*

4.4.1 Hipótesis nula:

Tras haber transcurrido 4 años desde la pandemia del virus Influenza A H1N1pdm09, la infección causada por el virus Influenza A H1N1pdm09 se ha igualado al de la gripe estacional causada por el virus Influenza A H3N2.

4.4.2 Hipótesis alternativa:

A pesar de transcurridos 4 años desde la pandemia del virus Influenza A H1N1pdm09, la enfermedad causada por este virus sigue teniendo mayor severidad que la gripe estacional causada por el virus Influenza A H3N2.

5. RESULTADOS

Un total de 410 adultos con sospecha de gripe visitaron el servicio de Urgencias del Hospital Miguel Servet entre el 1 de enero hasta el 30 abril de 2014, y a quienes se les realizó una RT-PCR para gripe en las primeras 6 horas desde su llegada a dicho servicio; los resultados de la RT-PCR estaban disponibles en un plazo de 24 horas. Un total de 234 fueron hospitalizados por obtener un resultado positivo, de los cuales 146 (62,4%) tenían infección por el virus Influenza A H1N1pdm09 y 88 (37,6%) por el virus Influenza A H3N2. Un único paciente estaba infectado simultáneamente por los dos virus y fue excluido del estudio. Ningún paciente presentó infección por Influenza B. Los pocos casos que fueron diagnosticados de gripe previa al inicio del período de este estudio, así como los pacientes a los que se les categorizó como una infección nosocomial por el virus de la Influenza no fueron incluidos. La mayor incidencia de casos de gripe ocurrieron en el mes de enero y febrero del año 2014, y febrero fue el mes con mayor registro de infecciones por virus Influenza A H3N2.

El tratamiento con Oseltamivir fue iniciado antes de los resultados de la RT-PCR para gripe, en las primeras 24 horas del ingreso y se retiró en los casos que resultaron negativos, exceptuando en aquellos que tenían antecedente de un contacto cercano con un paciente con gripe confirmada. En los pacientes con resultado de RT-PCR para gripe positiva, se mantenía el tratamiento con Oseltamivir hasta cumplimentar los 7 días de tratamiento; además de ajustarse la dosis en aquellos con insuficiencia renal y una tasa de filtrado glomerular menor de 60 ml/min.

La media de edad de los pacientes fue de 64 años en los pacientes con Influenza A H1N1pdm09 y 77 años en aquellos con Influenza A H3N2 ($p > 0,001$). Se dividieron a los pacientes en base a rangos de edad, siendo el rango más amplio el de pacientes entre 60-65 años de edad con infección por Influenza A H1N1pdm09 con un 24%, a diferencia del rango más frecuente en el grupo de Influenza A H3N2 que era en mayores de 80 años con un 43,2%. La distribución por edad era muy diferente entre cada grupo de virus (Figura 1).

La mayor parte de pacientes (76,5%) tenía al menos una condición médica subyacente, sin existir diferencias entre los dos grupos. En el grupo de pacientes

con infección por el virus Influenza A H1N1pdm09 existía una mayor incidencia de pacientes con inmunosupresión, mientras que los pacientes con Influenza A H3N2 era más frecuente que padecieran enfermedades crónicas como enfermedades cerebrovasculares y cardiovascular crónica (Tabla 1).

TABLA 1: *Condiciones médicas subyacentes en pacientes con virus Influenza A H1N1pdm09 vs. A H3N2.*

Comorbilidades	Influenza A(H1N1pdm09) (n = 146)	Influenza A(H3N2) (n = 88)	P
Índice de Masa Corporal (>30)	26 (17,8%)	11 (12,5%)	0,290
Diabetes	29 (19,8%)	20 (22,7%)	0,602
Enfermedad crónica hepática	8 (5,5%)	3 (3,4%)	0,469
Enfermedad renal crónica	22 (15,1%)	13 (14,8%)	,951
Enfermedad cardíaca crónica	34 (23,3%)	31 (35,2%)	0,048
Enfermedad cerebrovascular	12 (8,2%)	19 (21,6%)	0,003
EPOC	31 (21,2%)	12 (13,6%)	0,146
Asma	12 (8,2%)	9 (10,2%)	0,603
Neoplasia	26 (17,8%)	8 (9,1%)	0,067
Bronquiectasias	4 (2,7%)	2 (2,3%)	0,827
Embarazo	17 (11,6%)	5 (5,7%)	0,130
Inmunosupresión (1)	37 (25,3%)	9 (10,2%)	0,005
3 o > comorbilidades	38 (26,0%)	20 (22,7%)	0,496
Sin comorbilidades	36 (24,6%)	19 (21,6%)	0,592

(1) Inmunosupresión: VIH, neoplasia activa, quimioterapia activa, trasplante, tratamiento crónico con corticosteroides orales (≥ 20 mg/día de prednisona o equivalentes).

El tiempo medio desde el inicio de los síntomas fue de 4,4 días en el grupo de Influenza A H1N1pdm09 versus 3,3 días de media para el grupo de Influenza A H3N2 ($p=0,024$). Los síntomas más comúnmente reportados fueron tos y fiebre, sin diferencias significativas entre los síntomas y signos de ambos grupos.

En el grupo de Influenza A H1N1pdm09 fue más común la presencia de neumonía, complicaciones respiratorias, ingreso en unidad de cuidados intensivos (UCI), síndrome de distrés respiratorio del adulto (SDRA), shock séptico y necesidad de

ventilación mecánica invasiva (VMI).

Se evaluó la gravedad de la neumonía al ingreso mediante las escalas de gravedad de PSI (*Pneumonia Severity Index* por sus siglas en inglés) y la escala CURB65, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos. Sólo un paciente desarrolló encefalopatía secundaria a la infección por influenza con recuperación posterior. La mortalidad intrahospitalaria fue mayor para el grupo de Influenza A H1N1pdm09 pero no hubo diferencias estadísticamente significativas en comparación con el grupo de Influenza A H3N2. Los niveles de biomarcadores (PCR, PCT y ADE) se recogieron al ingreso en 108 pacientes (46%) de 234 y no mostraron diferencias estadísticas entre los dos grupos. Las principales manifestaciones clínicas, hallazgos radiológicos y analíticos y los resultados se muestran en la (Tabla 2). Las causas de mortalidad intrahospitalaria se resumen en la Tabla 3.

La tasa de coinfección bacteriana fue similar en ambos grupos. El único fluido estéril analizado fue la sangre (hemocultivos), debido a que no hubo indicación de toma de otras muestras. *Streptococcus pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* fueron los patógenos encontrados con mayor frecuencia. Tanto los niveles de PCT como de PCR fueron más altos cuando estaba asociada una coinfección bacteriana en comparación a la infección como etiología única la viral (Tabla 4); también se observó elevación de estos valores en los casos severos.

TABLA 2: *Manifestaciones clínicas, hallazgos radiológicos y de laboratorio y desenlace de pacientes con infección por virus Influenza A H1N1pdm09 y A H3N2.*

	Influenza A(H1N1pdm09) (n = 146)	Influenza A(H3N2) (n = 88)	P
Manifestaciones clínicas, no (%)			
Días desde el inicio de los síntomas, media (SD)	4.49 (±4,244)	3,46 (±2,571)	0,024
Vacunación (n = 191) (%)	48/118 (40,7%)	44/73 (60,3%)	0,008
Edad (mediana)	64	77	<0,001

Sexo (Mujer/Hombre)	69/77	48/40	0,280
Fiebre al ingreso	119 (81,5%)	75 (85,2%)	0,132
Tos	125 (85,6%)	73 (82,9%)	0,781
Expectoración	94 (64,4%)	49 (55,7%)	0,235
Disnea	98 (67,1%)	61 (69,3%)	0,783
Dolor pleurítico	27 (18,5%)	10 (11,4%)	0,161
Enfermedades gastrointestinales	23 (15,8%)	18 (20,4%)	0,342
Cefalea	18 (12,3%)	9 (10,2%)	0,656
Mialgias	36 (24,6%)	18 (20,5%)	0,499
Dolor de gargante	17 (11,6%)	8 (9,1%)	0,567
Hallazgos radiológicos			
Neumonía	66 (45,2%)	14 (15,9%)	<0,001
- Opacidades alveolares	43/66 (65,1%)	12/14 (85,7%)	0,132
- Infiltrados multilobares	38/66 (57,6%)	6/14 (42,8%)	0,399
- Infiltrados bilaterales	30/66 (45,4%)	5/14 (33,3%)	0,470
- PSI score IV-V	34/66 (51,5%)	9/14 (64,3%)	0,384
- CURB 65 score >2	31/66 (46,9%)	7/14 (50%)	0,837
Resultados clínicos, no (%)			
- Complicaciones respiratorias	98 (67,1%)	45(51,1%)	0,015
- Insuficiencia renal	21 (14,4%)	7 (7,9%)	0,142
- Insuficiencia cardiaca	35 (23,9%)	22 (25%)	0,859
- Complicaciones neurológicas	8 (5,5%)	1 (1,1%)	0,098
- Complicaciones digestivas	8 (5,5%)	10 (11,3%)	0,099
	Influenza A(H1N1) (n = 146)	Influenza A(H3N2) (n = 88)	P
- SDRA (*)	7 (4,8%)	0 (0%)	0,047
- Shock séptico	16 (10,9%)	3 (3,4%)	0,049
Ingreso a UCI	23 (15,7%)	5 (5,7%)	0,022
VMNI (**)	12 (8,2%)	7 (7,9%)	0,943
VMI (***)	18 (12,3%)	4 (4,5%)	0,049
Hospitalización, Mediana en días (rango)	8 (1–84)	9 (1–84)	0,856
Fallecimiento durante el ingreso	16 (19,9%)	9 (10,2%)	0,870
Mortalidad a los 30 días	19 (13%)	11 (12,5%)	0,920
Mortalidad a los 180 días	26 (17,8%)	14 (15,9%)	0,489
Mortalidad a los 365 días	29 (19,8%)	15 (17%)	0,702
Coinfección bacteriana No, (%)	24 (16,4%)	9 (10,2%)	0,194
Hallazgos analítica			

Leucopenia (<4,000/mm ³), no (%)	18 (12,3%)	4 (4,5%)	0,044
Leucocitosis (>12,000/mm ³), no (%)	42 (28,7%)	10 (11,4%)	0,020
Neutropenia (<500/mm ³), no (%)	3 (2,1%)	1 (1,1%)	0,589
Anemia (Hematocrito <36%), no (%)	40 (27,4%)	13 (14,7%)	0,030
Trombocitopenia (<150.10 ³ /mm ³), no (%)	43 (29,5%)	39 (44,3%)	0,026
Hiponatremia <135 mmol/l, no (%)	49 (33,5%)	22 (25%)	0,120
Creatinina >1.5 mg/dl, no (%)	24 (16,4%)	10 (11,4%)	0,292
Proteína C-Reactiva (PCR) (mg/dl) (rango) (N = 94)	11,82 (0-46) (n = 60)	9,38(1-46) (n = 34)	0,256
Procalcitonina (PCT) (ng/ml) (rango) N = 85	0,14 (0-84) (n = 62)	0,13 (0-35) (n = 23)	0,793

(*) SDRA: síndrome distrés respiratorio del adulto. (**VMNI: ventilación mecánica no invasiva. (***) VMI: ventilación mecánica invasiva.

Sesenta y ocho pacientes de 234 (29%) fueron considerados como graves. De éstos, 52 (76,5%) se asociaron a infección por Influenza A H1N1pdm09 y 16 (23,5%) a Influenza A H3N2 (p=0,005). La gravedad de la enfermedad también se asoció con la coinfección bacteriana (p <0,001). No hubo asociación estadísticamente significativa entre la edad o la vacunación con la severidad de la infección por influenza en el análisis univariante. Entre las condiciones médicas subyacentes seleccionadas individualmente, la gravedad de la influenza fue significativamente menor entre las mujeres embarazadas (p <0,028) (Tabla 5).

TABLA 3: *Causas de mortalidad en los grupos de Influenza A H1N1pdm09 y A H3N2.*

Causas de Mortalidad	A(H1N1pdm09) (n = 16)	A(H3N2) (n = 9)
SDRA (*)	4	
Neumonía. Fracaso multiorgánico. Shock séptico	3	4
Shock séptico. Fallo cardiaco.	3	
Fallo cardiaco	2	2
Fallo cardiaco. Fallo renal.		1
Fallo renal. Sangrado digestivo.	1	1
Neutropenia. Fracaso multiorgánico.	1	

Broncoaspiración		1
Neumonía bilateral. Neumotórax.	1	
Agudización de enfermedad pulmonar. Perforación intestinal.	1	

(*) SDRA: síndrome de estrés respiratorio del adulto.

Se realizó un análisis multivariante para buscar predictores independientes de gravedad. La edad, etiología, estado de vacunación, comorbilidad (EPOC, asma, bronquiectasias, enfermedad cardiovascular, enfermedades crónicas renales y hepáticas, neoplasia activa e inmunosupresión), días desde el inicio de la enfermedad hasta el ingreso, y la coinfección bacteriana se incluyeron en el modelo. Los biomarcadores no se incluyeron en el modelo final debido al pequeño número de pacientes para quienes estaban disponibles estos datos. Los predictores independientes de gravedad incluyeron la ausencia de vacunación gripal (OR, 3,086; p=0,013), etiología de Influenza A H1N1pdm09 (OR, 2,525; p=0,037) y coinfección bacteriana (OR, 2,821; p=0,044) (Tabla 6). El modelo diagnóstico para el análisis de regresión fue verificado utilizando la prueba de Hosmer y Lemeshow (p = 0,751). Nuestro modelo con tres variables significativas (etiología, estado de vacunación y coinfección) fue capaz de predecir la gravedad en el 73,4% de pacientes, sin dificultades en el algoritmo de estimación iterativa. La sensibilidad fue del 14,3% y la especificidad fue del 95,7%.

TABLA 4: Resultados de niveles PCR y PCT al ingreso en coinfección bacteriana y viral vs. infección viral exclusiva.

	Coinfección (viral+bacteriana)	Viral	P
Proteína C-reactiva (mg/dl) (rango) N = 93*	24,9 (1-46)	9,91(0-42)	0,015
Procalcitonina (ng/ml) (rango) N = 84**	0,99 (0-14)	0,11 (0-84)	0,001

*Rango normal para Proteína C-reactiva: 0-0,50 mg/dL.

**Rango normal para Procalcitonina:0-0,50 ng/dL.

El 48% (92/191) de los pacientes habían recibido la vacuna contra la gripe. La vacunación antigripal fue más frecuente en el grupo de Influenza A H3N2 que en el grupo A H1N1pdm09 (60,3% vs. 40,7%; p=0,008) (Tabla 2). Según las recomendaciones del Ministerio de Salud de España, existía indicación de administrar la vacuna contra la influenza en el 91% (174/191) de los sujetos

estudiados, y alrededor del 40% de los pacientes con afecciones de alto riesgo no estaban cubiertos por la vacuna (Tabla 7). La indicación más frecuente para la vacunación gripal fue por edad en mayores de 65 años. Únicamente una paciente (6,25%) de 16 de las mujeres embarazadas estaba vacunada; y 13 (38,3%) de 34 pacientes inmunodeprimidos había sido vacunado contra la gripe (Tabla 7). En el grupo de infección por Influenza A H1N1pdm09, se encontró enfermedad grave en el 20,8% de los pacientes vacunados y en el 38,6% de los pacientes no vacunados ($p=0,041$). En el grupo de Influenza A H3N2, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre el estado de vacunación y la mala evolución clínica (Tabla 5).

TABLA 5: Características asociadas con enfermedad grave por influenza en adultos hospitalizados.

Características	No severa (n = 166) No. (%)	Severa (n = 68) No (%)	P value
Tipo/subtipo Influenza			0,005
Influenza A(H1N1pdm09)	94 (56,6%)	52 (76,5%)	
Influenza A(H3N2)	72 (43,4%)	16 (23,5%)	
Días desde el inicio de los síntomas(SD)	4,05	4,22	0,764
Vacunación (n = 191)	73/142 (51,4%)	19/49 (38,7%)	0,129
Vacunación en pacientes con alto riesgo (n = 174)	71/130 (54,6%)	19/44 (43,2%)	0,190
Edad media (\pm SD)	62,5 (\pm 20,6)	65,6 (\pm 14,6)	0,263
Sexo			0,150
Hombre	78 (46,9%)	39 (57,4%)	
Mujer	88 (53,1%)	29 (42,6%)	
Índice de masa corporal 2:30	26 (15,6%)	11 (16,2%)	0,674
Embarazo (n = 22)	21 (12,6%)	1 (1,5%)	0,028
Condiciones médicas subyacente			
Comorbilidades 2:3	20 (12%)	7 (10,3%)	0,703
Enfermedad pulmonar (**)	43 (25,9%)	24 (35,3%)	0,149
EPOC (***)	28 (16,8%)	15 (22,1%)	0,353

Asma	15 (9%)	6 (8,8%)	0,959
Bronquiectasias	3 (1,8%)	3 (4,4%)	0,360
Enf. Cardíaca	50 (30,1%)	15 (22,1%)	0,213
Enf. Renal	23 (13,8%)	12 (17,6%)	0,461
Enf. Hepática	7 (4,2%)	4 (5,8%)	0,586
Enf. Cerebrovascular	24 (14,5%)	7 (10,3%)	0,396
Neoplasia	24 (14,5%)	10 (14,7%)	0,961
Inmunosupresión	33 (19,8%)	13 (19,1%)	0,894
Coinfección	14 (8,5%)	19 (27,1%)	<0,001
Proteína C-Reactiva (mg/dl) media (±SD)	7,45 (±6,8)	18,63 (±13,2)	<0,001
Procalcitonina (ng/ml) media (±SD)	0,42 (±1,57)	9,06 (±19,5)	0,003

(***) Enf. pulmonar: EPOC, bronquiectasias y/o asma. (**) EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

TABLA 6: *Análisis de regresión logística de los factores asociados con la enfermedad grave en adultos durante temporada de influenza.*

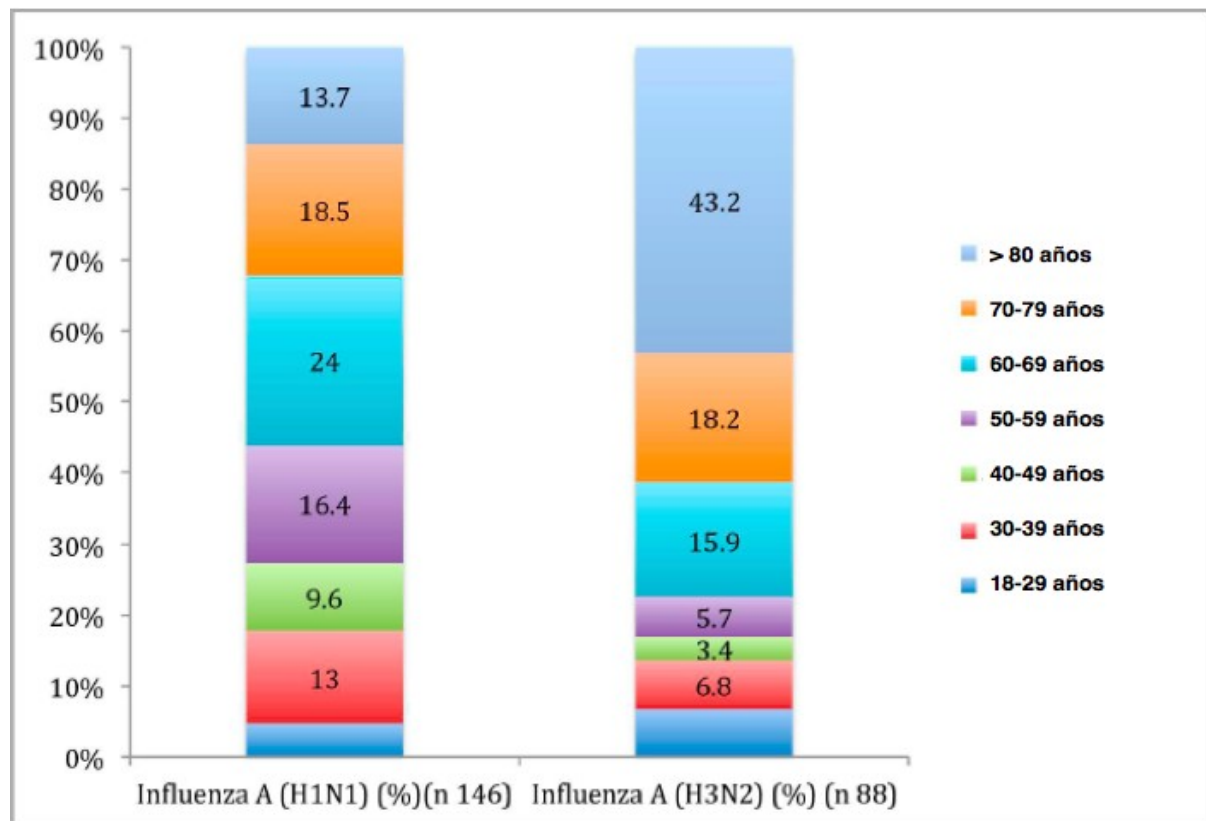
Características	NO AJUSTADO		AJUSTADO		
	OR	p	OR	95%CI	p
Edad	1,009	0,263	1,019	0,989–1,050	0,216
Etiología [Influenza A H1N1pdm09 vs. A H3N2]	2,487	0,005	2,525	1,058–6,024	0,037
Vacunación	0,599	0,129	0,324	0,132–0,792	0,013
Coinfección (viral +bacteria)	4,099	<0,001	2,821	1,030–7,723	0,044
Días desde el inicio de los síntomas	1,012	0,764	1,046	0,856–1,068	0,425
Cardiopatía	0,657	0,213	0,499	0,193–1,287	0,150
EPOC	1,395	0,353	1,281	0,486–3,377	0,616
Asma	0,974	0,959	1,486	0,383–5,762	0,567
Enf. cerebrovascular	0,679	0,396	1,164	0,379–3,573	0,791
Fracaso renal	1,332	0,461	1,965	0,662–5,830	0,224
Enf. hepática	1,420	0,586	0,637	0,101–4,032	0,632
Neoplasia	1,020	0,961	0,986	0,333–2,926	0,980
Inmunosupresión	0,953	0,894	0,635	0,219–1,840	0,403
Embarazo	0,103	0,028	0,152	0,015–1,503	0,107
Obesidad	1,190	0,674	0,903	0,331–2,462	0,843
Comorbilidades (3 o >)	0,838	0,703	1,023	0,213–4,921	0,978

TABLA 7: *Indicaciones y estado de vacunación antigripal antes del ingreso hospitalario.*

Indicación de vacunación (n)	Vacunación (%)
Mayor o igual a 65 años (114)	79/114 (69,3%)
Embarazo (16)	1/16 (6,25%)
EPOC (38)	26/38 (68,4%)
Asma (16)	12/16 (75%)
Cardiopatía (58)	37/58 (63,7%)
Inmunosupresión (34)	13/34 (38,3%)
Enf. Renal (30)	20/30 (66,6%)
IMC igual o >30 (29)*	17/29 (58,6%)
Diabetes mellitus (44)	28/44 (63,6%)
TOTAL (379)	233/379 (61,4%)

(*) IMC: índice de masa corporal.

FIGURA 1: Distribución por grupos de edades entre Influenza A H1N1pdm09 y A H3N2.



6. DISCUSIÓN

Este estudio sugiere que durante la cuarta temporada de influenza (2013-2014) tras la pandemia del 2009, los adultos hospitalizados por infección por el virus Influenza A H1N1pdm09 tenían el doble de probabilidad de presentar un cuadro severo, es decir, precisar ingreso en una unidad de cuidados intensivos, necesitar ventilación invasiva (VMI), desarrollar neumonía bilateral, SDRA, shock séptico o fallecer; todo esto en comparación con el grupo de pacientes con Influenza A H3N2. Esto fue cierto incluso después de controlar por edad, comorbilidad, días desde el inicio de los síntomas, coinfección bacteriana y estado de vacunación (OR, 2,525). No se ajustó el resultado al tratamiento con antivirales dado que todos los pacientes se trataron sistemáticamente con Oseltamivir en el momento de sospecha clínica, incluso antes de la confirmación con el resultado de RT-PCR para influenza del frotis nasofaríngeo; y siempre dentro de las primeras 24 horas tras la llegada del paciente al servicio de Urgencias. Nuestro modelo de diagnóstico con tres variables (etiología, coinfección y estado de vacunación) fueron capaces de predecir la gravedad en el 73,4% de los pacientes. Este modelo mostró una alta especificidad y baja sensibilidad. Por lo tanto puede utilizarse para identificar pacientes con menor severidad y ayudar a los médicos a tomar decisiones con respecto al manejo de estos pacientes. En definitiva, son necesarios más estudios con otras poblaciones para verificar la validez del modelo.

Durante la pandemia, la infección por el virus Influenza A H1N1pdm09 estaba asociada a gravedad en algunos grupos particulares, en jóvenes, sujetos con obesidad y en mujeres embarazadas (Chowel *et al*, 2009; Jamieson *et al*, 2009; Kok *et al*, 2013; Santa-Olalla *et al*, 2010).

Dominguez-Cherit *et al* realizó un estudio exclusivamente en pacientes graves enfermos por Influenza A H1N1pdm09 durante la temporada 2013-2014, concluyendo que persistía el predominio de pacientes relativamente jóvenes con una edad media de 48,3 años (Dominguez-Cherit *et al*, 2016).

Sin embargo, es sujeto de discusión si la virulencia del virus Influenza A H1N1pdm09 es mayor o no comparado con la gripe estacional causada por el virus Influenza A H3N2; este debate surgió durante el 2009 y sigue incluso en estudios posteriores a la pandemia (Belongia *et al*, 2010; Chaves *et al*, 2013; Donaldson *et al*, 2009; Lee *et al*, 2011; Lehnert *et al*, 2013; Rahamat-Langendoen *et al*, 2012;

Reed *et al*, 2014; Yap *et al*, 2012).

La mayor parte de estudios disponibles no controlaron por factores con potencial impacto en la severidad de la infección por influenza, como la edad y comorbilidades previas. Además los datos utilizados provenían de información recogida en vigilancia poblacional, y las comparaciones del virus Influenza A H1N1pdm09 se realizaron con datos de la gripe estacional de años anteriores. Lo anterior puede incluir sesgos potenciales, como la variación del comportamiento de búsqueda de atención médica por parte de la población, la adaptación inmune del huésped, el grado de coincidencia entre virus circulantes y los seleccionados para la realización de la vacuna, y probabilidad de recibir medicamentos antivirales. Hasta donde sabemos, existen escasos estudios como el nuestro que examina la severidad de ambos virus Influenza A en la misma temporada en pacientes hospitalizados. Uno de los estudios de Chaves *et al* comparó la Influenza A H1N1pdm09 con los virus Influenza A H3N2 y B (2010-2011), e incluyó a 2498 adultos de 276 hospitales; de nuevo estos datos provenían de una red de vigilancia (FLUSORV-NET) con los que se ejecutó un análisis multivariante ajustado por edad, comorbilidades de base y terapia antiviral recibida con el fin de identificar predictores de severidad (ingreso en UCI o muerte) asociados a cada uno de los virus. Los hallazgos de Chaves *et al* encontraron que la infección por el virus Influenza A H1N1pdm09 estaba asociado al doble de probabilidad de desarrollar un cuadro severo. Sin embargo, en el modelo utilizado no tomó en cuenta confusores potenciales como el estado de vacunación o la inmunosupresión.

Un estudio recientemente publicado en 2019 por Minney-Smith, compara la frecuencia y la severidad de varios virus respiratorios incluidos el virus Influenza A H1N1pdm09 y A H3N2 desde el año 2012 hasta el 2015. Concluye que durante el estudio los pacientes hospitalizados por infección por Influenza A H1N1pdm09 tenían mayor riesgo de desarrollar enfermedad severa comparado con la Influenza A H3N2 y otros virus respiratorios; sin embargo tampoco tomaron en cuenta el estado de vacunación ni la asociación con obesidad (Minney-Smith *et al*, 2019).

Este estudio sugiere una mayor virulencia asociada al virus Influenza A H1N1pdm09 comparada con el virus de influenza A H3N2 en sujetos hospitalizados tras 4 años

después de la pandemia del 2009. Se observó una mayor extensión del virus Influenza A H1N1pdm09 en el aparato respiratorio desencadenando una neumonía grave y fatal en comparación con la gripe estacional Influenza A H3N2 (Guarner *et al*, 2009; van den Brand *et al*, 2012).

En la temporada de influenza 2013-2014, la Influenza A H1N1pdm09 se convirtió en la cepa de gripe estacional dominante en Norteamérica (WHO Flumart Outputs [Internet]) y muchas jurisdicciones experimentaron una nueva ola de enfermedades críticas relacionadas con el virus Influenza A H1N1pdm09 (Napolitano *et al*, 2014).

Otros factores independientes asociados con un resultado grave fueron la coinfección bacteriana y la ausencia de administración de vacuna antigripal previa. La coinfección bacteriana se reconoce como un factor que conduce al aumento de la morbilidad y la mortalidad en las infecciones por el virus Influenza (Cillóniz *et al*, 2012; Jamieson *et al*, 2013; Martín-Loeches *et al*, 2011; Morens *et al*, 2008).

S. pneumoniae y *P. aeruginosa* fueron las bacterias más frecuentemente involucradas en las coinfecciones, especialmente de aquellos pacientes con peor desenlace de la enfermedad y asociada a la infección por Influenza A H1N1pdm09. Estas bacterias se aislaron con mayor frecuencia como patógenos coinfectantes en algunas cohortes de pacientes hospitalizados con neumonía y con infección reciente por Influenza A H1N1pdm09 (Cilloniz *et al*, 2012; Martín-Loeches *et al*, 2011). Lo que es cierto es que en este caso, es difícil considerar la coinfección bacteriana como predictor de gravedad o como resultado final, ya que muchas bacterias se aislaron algunos días después de la admisión. Recientemente se ha descubierto que el virus Influenza promueve la susceptibilidad a la coinfección bacteriana letal, independientemente de la carga de patógenos o la respuesta inflamatoria (Jamieson *et al*, 2013).

Ha sido establecido que la vacunación gripal previene la progresión a una enfermedad grave y requerimiento de hospitalización (Bresee *et al*, 2013; Castilla *et al*, 2013). La edad avanzada, enfermedades crónicas subyacentes, así como la obesidad, tercer trimestre de gestación y el período postparto, han sido consideradas como factores de riesgo que condicionan una peor evolución clínica y

por lo tanto deberían de considerarse como dianas de vacunación gripal.

Debido al suministro limitado de vacunas, la OMS y la mayoría de los países dan prioridad a grupos de riesgo específicos. Aunque algunas recomendaciones son consistentes, como la vacunación de trabajadores de la salud, mujeres embarazadas y aquellos con ciertas condiciones de alto riesgo, también hay discrepancias, como los grupos de edad que necesitan ser priorizados. En España, las personas mayores de 65 años reciben con mucha frecuencia la vacuna, aunque también existe una indicación para personas de 65 años con enfermedades y afecciones crónicas, incluido el embarazo y la obesidad mórbida (Santa-Olalla *et al*, 2010). En los sujetos de este estudio, casi el 70% de las personas mayores de 65 años estaban vacunados, y la tasa de vacunación entre las personas con Influenza A H3N2 (mediana de edad, 77), fue del 60,3%. Sin embargo, en pacientes con Influenza A H1N1pdm09 (mediana de edad, 64), esta cifra fue sólo del 40,7% ($p=0,008$). La tasa de comorbilidades fue similar en ambos grupos (78,4% vs 75,5%); la mayoría de casos entre ambos grupos fueron tenían comorbilidades subyacentes. La baja tasa de vacunación entre algunos de nuestros pacientes de alto riesgo, como en embarazadas y pacientes inmunodeprimidos, fue notable.

Dentro del grupo de Influenza A H1N1pdm09, diferencias significativas fueron observadas en la tasa de casos graves entre los vacunados y los que no habían recibido vacunación gripal. Por lo tanto, los pacientes infectados con Influenza A H1N1pdm09 eran más jóvenes que los infectados con Influenza A H3N2, habían recibido menos vacunación a pesar de una tasa similar de comorbilidades, y mostraron una evolución más grave.

Dos estudios han demostrado una relación entre la baja tasa de vacunación y la enfermedad crítica (Catania *et al*, 2014) y la necesidad para el ingreso en la UCI de jóvenes infectados con Influenza A H1N1. Un nivel bajo temprano de anticuerpo anti-A H1N1 con respuesta para la inhibición de la hemaglutinación se asoció con casos fatales (Guihot *et al*, 2014). Las comorbilidades asociadas fueron diferentes: la inmunosupresión fue más común en la Influenza A H1N1pdm09 y enfermedad cardiovascular en la infección por Influenza A H3N2. Todos estos hallazgos sugieren la necesidad de una mayor tasa de vacunación en adultos jóvenes, especialmente

aquellos con condiciones médicas subyacentes. Un estudio reciente de pacientes hospitalizados con neumonía por influenza durante dos temporadas (2010 ± 2012) encontró una efectividad estimada de la vacuna del 56,7% y más alta para la Influenza A H1N1pdm09 (59,5%) que A H3N2 (45,1%) (Grijalva *et al*, 2015). Sin embargo, según los datos de Eurosurveillance la efectividad de la vacuna antigripal para la temporada 2013/2014 en España fue del 35% [33% para A H1N1pdm09 y 28% para A H3N2], un porcentaje menor en comparación con años anteriores. Es cierto que, en anteriores temporadas, la efectividad de la vacuna de la influenza fue consistentemente más baja en España que en USA y Canadá, posiblemente debido a diferentes características de los virus, según la Vigilancia Centinela de Influenza Española System (SISS) (las pruebas antigénicas aún no están disponibles en nuestro país) (Jimenez-Jorge *et al*, 2014).

A pesar de la menor edad de los sujetos, la Influenza A H1N1pdm09 se asoció con más resultados severos. Se han informado hallazgos similares tanto durante las pandemias (Dalto *et al*, 2010; Lee *et al*, 2011) como en temporadas posteriores a la pandemia (Chaves *et al*, 2013), en estudios en los que no se compararon ambos virus en el mismo año. Tanto un patrón decreciente de enfermedades graves en menores de 65 años que dura hasta una década después de la pandemia (Simonsen *et al*, 1998) como un comportamiento epidemiológico similar a la de la Influenza A estacional se han previsto también para la Influenza A H1N1pdm09 (Adalja, 2011). En este estudio y en otros en el período post pandémico 2010-2011 (Lehners *et al*, 2013; Viasus *et al*, 2012) y en las temporadas 2012-2013 (Sherbany *et al*, 2014) encontraron una mayor proporción de casos graves hospitalizados por Influenza A H1N1pdm09 que fueron de una edad mayor que en la pandemia, pero más joven que habitualmente durante la influenza estacional, y frecuentemente con comorbilidades de base (Lehners *et al*, 2013; Sherbany *et al*, 2014). Por el momento, la distribución por edades y el espectro clínico de la Influenza estacional A H1N1pdm09 sigue siendo diferente a la de A H3N2 4 años después de la pandemia. El conocimiento de los virus circulantes y sus parámetros epidemiológicos ayuda a comprender la carga de la influenza estacional y pandémica, y permite la cuantificación y comparación del riesgo de desarrollar enfermedad grave (Widdowson *et al*, 2014). Estos hallazgos refuerzan la necesidad de identificar y proteger a los grupos de mayor riesgo (Lehners *et al*, 2013).

Los pacientes con infección por Influenza A H1N1pdm09 acudieron al hospital habiendo pasado más días desde el inicio de los síntomas que aquellos con infección por Influenza A H3N2 (4,49 días frente a 3,46 días), probablemente esta diferencia surge en parte a las diferencias de edad; así esta circunstancia puede haber tenido algún impacto en la evolución de la enfermedad. Sin embargo, el inicio de Oseltamivir, incluso después del segundo día desde el inicio de los síntomas, aunque en menor grado, puede reducir la mortalidad (Muthuri *et al*, 2014). Además, esta diferencia no resultó ser un factor de riesgo independiente para la gravedad en nuestro modelo multivariante, y en cualquier caso, no era posible administrar el tratamiento antiviral antes.

La limitación más importante de este estudio es el número relativamente pequeño de casos, y que únicamente provienen de un mismo centro. Sin embargo, este hecho permitió evitar varios sesgos potenciales importantes de la historia clínica, comportamiento diagnóstico y terapéutico heterogéneo entre hospitales, e incluso la decisión del profesional para solicitar la determinación de RT-PCR para influenza (Chaves *et al*, 2013).

Aunque los datos de este estudio se obtuvieron retrospectivamente, se utilizó un enfoque similar para la recogida de datos de cada pacientes. El aparente papel “protector” del embarazo para la enfermedad grave puede explicarse por la hospitalización sistemática de las mujeres gestantes durante las primeras semanas de la temporada gripal dada la alarma social, incluso en casos leves. En este estudio no se realizó diferenciación entre obesidad y obesidad mórbida. No se pudo establecer el efecto potencial de los corticosteroides en la infección grave por influenza (Muthuri *et al*, 2014), y no se ajustó por tratamiento con corticoides ni antibióticos. Sin embargo, todos los pacientes tuvieron un manejo tanto diagnóstico como terapéutico similar. Las fortalezas de este estudio incluyen que la comparación de los dos virus fue en la misma temporada, en una población homogéneamente inmunizada y con el mismo comportamiento clínico, incluido el tratamiento antiviral desde el momento en el que se sospechó infección por influenza.

7. CONCLUSIONES

1. El virus Influenza A H1N1 estacional es un factor de riesgo independiente para enfermedad grave en pacientes hospitalizados, al menos durante el año 2014 tras haber transcurrido 4 años desde la pandemia por el virus Influenza A H1N1pdm09.
2. El virus de la Influenza A H1N1 continúa afectando a la población más joven en comparación con el virus Influenza A H3N2, especialmente por la falta de vacunación.
3. Otros predictores de enfermedad grave en el grupo estudiado fueron la ausencia de vacunación antigripal y la coinfección bacteriana.
4. Durante la pandemia del 2009 (virus Influenza A H1N1pdm09), la obesidad fue considerada un factor de riesgo, persistiendo el mismo comportamiento en los años posteriores a la pandemia. La obesidad es un objetivo de estudio prometedor en la vacunación antigripal estacional.
5. A falta de disponibilidad universal, es necesario el establecimiento de nuevas

dianas de vacunación antigripal, especialmente en aquellos menores de 65 años.

8. ANEXOS

8.1 Glosario de abreviaturas

ADE: ancho de distribución eritrocitaria.

BAL: lavado broncoalveolar.

CDC: Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades.

EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

IMC: índice de masa corporal.

INA: inhibidores de la neuraminidasa

NAC: neumonía adquirida en la comunidad.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

OR: odds ratio.

PCR: proteína C reactiva.

PCT: procalcitonina.

PSI: pneumonia severity index.

RT-PCR: reacción en cadena de la Polimerasa a tiempo real.

SARS: severe acute respiratory syndrome

SDRA: síndrome de distrés respiratorio del adulto.

SIDA: síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

UCI: unidad de cuidados intensivos.

VIH: virus de la inmunodeficiencia humana.

VMI: ventilación mecánica invasiva.

VMNI: ventilación mecánica no invasiva.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A

Adalja AA. Comparing severity and outcomes for seasonal and 2009 H1N1 infections. *JAMA*. 2011 Jan 5;305(1):39-40; author reply 40. doi: 10.1001/jama.2010.1888. PMID: 21205963.

Adhikari NK, Fowler RA, Bhagwanjee S, Rubenfeld GD. Critical care and the global burden of critical illness in adults. *Lancet*. 2010 Oct 16;376(9749):1339-46. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60446-1. Epub 2010 Oct 11. PMID: 20934212; PMCID: PMC7136988.

Álvarez-Lerma F, Marín-Corral J, Vila C, Masclans JR, González de Molina FJ, Martín Loeches I, Barbadillo S, Rodríguez A; H1N1 GETGAG/SEMICYUC Study Group. Delay in diagnosis of influenza A (H1N1)pdm09 virus infection in critically ill patients and impact on clinical outcome. *Crit Care*. 2016 Oct 23;20(1):337. doi: 10.1186/s13054-016-1512-1. PMID: 27770828; PMCID: PMC5075413.

Andrews SF, Huang Y, Kaur K, Popova LI, Ho IY, Pauli NT, Henry Dunand CJ, Taylor WM, Lim S, Huang M, Qu X, Lee JH, Salgado-Ferrer M, Krammer F, Palese P, Wrammert J, Ahmed R, Wilson PC. Immune history profoundly affects broadly protective B cell responses to influenza. *Sci Transl Med*. 2015 Dec 2;7(316):316ra192. doi: 10.1126/scitranslmed.aad0522. PMID: 26631631; PMCID: PMC4770855.

Arriola CS, Anderson EJ, Baumbach J, Bennett N, Bohm S, Hill M, Lindegren ML,

Lung K, Meek J, Mermel E, Miller L, Monroe ML, Morin C, Oni O, Reingold A, Schaffner W, Thomas A, Zansky SM, Finelli L, Chaves SS. Does Influenza Vaccination Modify Influenza Severity? Data on Older Adults Hospitalized With Influenza During the 2012-2013 Season in the United States. *J Infect Dis.* 2015 Oct 15;212(8):1200-8. doi: 10.1093/infdis/jiv200. Epub 2015 Mar 27. PMID: 25821227; PMCID: PMC4683374.

Ayscue P, Murray E, Uyeki T, Zipprich J, Harriman K, Salibay C, Kang M, Luu A, Glenn-Finer R, Watt J, Glaser C, Louie J; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Influenza-associated intensive-care unit admissions and deaths - California, September 29, 2013-January 18, 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2014 Feb 21;63(7):143-7. PMID: 24553197; PMCID: PMC4584758.

B

Belongia EA, Irving SA, Waring SC, Coleman LA, Meece JK, Vandermause M, Lindstrom S, Kempf D, Shay DK. Clinical characteristics and 30-day outcomes for influenza A 2009 (H1N1), 2008-2009 (H1N1), and 2007-2008 (H3N2) infections. *JAMA.* 2010 Sep 8;304(10):1091-8. doi: 10.1001/jama.2010.1277. PMID: 20823435.

Belongia EA, Kieke BA, Donahue JG, Greenlee RT, Balish A, Foust A, Lindstrom S, Shay DK; Marshfield Influenza Study Group. Effectiveness of inactivated influenza vaccines varied substantially with antigenic match from the 2004-2005 season to the 2006-2007 season. *J Infect Dis.* 2009 Jan 15;199(2):159-67. doi: 10.1086/595861. PMID: 19086915.

Biggerstaff M, Kniss K, Jernigan DB, Brammer L, Bresee J, Garg S, Burns E, Reed C. Systematic Assessment of Multiple Routine and Near Real-Time Indicators to Classify the Severity of Influenza Seasons and Pandemics in the United States, 2003-2004 Through 2015-2016. *Am J Epidemiol.* 2018 May 1;187(5):1040-1050. doi: 10.1093/aje/kwx334. PMID: 29053783; PMCID: PMC5908755.

Biologicals: Influenza [Internet]. WHO (World Health Organization). 2019 [citado 10 enero 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/biologicals/vaccines/influenza/en/>

Blanton L, Peacock G, Cox C, Jhung M, Finelli L, Moore C. Neurologic disorders among pediatric deaths associated with the 2009 pandemic influenza. *Pediatrics.*

2012 Sep;130(3):390-6. doi: 10.1542/peds.2011-3343. Epub 2012 Aug 29. PMID: 22931899.

Bouvier NM, Palese P. The biology of influenza viruses. *Vaccine*. 2008 Sep 12;26 Suppl 4(Suppl 4):D49-53. doi: 10.1016/j.vaccine.2008.07.039. PMID: 19230160; PMCID: PMC3074182.

Bui HH, Peters B, Assarsson E, Mbawuike I, Sette A. Ab and T cell epitopes of influenza A virus, knowledge and opportunities. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Jan 2;104(1):246-51. doi: 10.1073/pnas.0609330104. PMID: 17200302; PMCID: PMC1765443.

Bresee J. Estimated Influenza Illnesses and Hospitalizations Averted by Influenza Vaccination — United States, 2012–13 Influenza Season [Internet]. CDC (Centers of Disease Control and Prevention). 2013 [citado 11 noviembre 2020]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6249a2.htm>

C

Castilla J, Godoy P, Domínguez A, Martínez-Baz I, Astray J, Martín V, Delgado-Rodríguez M, Baricot M, Soldevila N, Mayoral JM, Quintana JM, Galán JC, Castro A, González-Candelas F, Garín O, Saez M, Tamames S, Pumarola T; CIBERESP Cases and Controls in Influenza Working Group Spain. Influenza vaccine effectiveness in preventing outpatient, inpatient, and severe cases of laboratory-confirmed influenza. *Clin Infect Dis*. 2013 Jul;57(2):167-75. doi: 10.1093/cid/cit194. Epub 2013 Mar 26. PMID: 23532475.

Castilla J, Martínez-Artola V, Salcedo E, Martínez-Baz I, Cenoz MG, Guevara M, Alvarez N, Irisarri F, Morán J, Barricarte A; Network for Influenza Surveillance in Hospitals of Navarre. Vaccine effectiveness in preventing influenza hospitalizations in Navarre, Spain, 2010-2011: cohort and case-control study. *Vaccine*. 2012 Jan 5;30(2):195-200. doi: 10.1016/j.vaccine.2011.11.024. Epub 2011 Nov 18. PMID: 22100636.

Catania J, Que LG, Govert JA, Hollingsworth JW, Wolfe CR. High intensive care unit admission rate for 2013-2014 influenza is associated with a low rate of vaccination. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014 Feb 15;189(4):485-7. doi: 10.1164/rccm.201401-0066LE. PMID: 24512430; PMCID: PMC3977724.

Chaves SS, Aragon D, Bennett N, Cooper T, D'Mello T, Farley M, Fowler B, Hancock E, Kirley PD, Lynfield R, Ryan P, Schaffner W, Sharangpani R, Tengelsen L, Thomas A, Thurston D, Williams J, Yousey-Hindes K, Zansky S, Finelli L. Patients hospitalized with laboratory-confirmed influenza during the 2010-2011 influenza season: exploring disease severity by virus type and subtype. *J Infect Dis*. 2013 Oct

15;208(8):1305-14. doi: 10.1093/infdis/jit316. Epub 2013 Jul 17. PMID: 23863950.

Chen J, Deng YM. Influenza virus antigenic variation, host antibody production and new approach to control epidemics. *Virol J*. 2009 Mar 13;6:30. doi: 10.1186/1743-422X-6-30. PMID: 19284639; PMCID: PMC2666653.

Cheng AC, Kotsimbos T, Kelly HA, Irving LB, Bowler SD, Brown SG, Holmes M, Jenkins CR, Thompson P, Simpson G, Wood-Baker R, Senanayake SN, Brady SJ, Paterson DL, Wark PA, Upham JW, Korman TM, Dwyer DE, Waterer GW, Kelly PM. Effectiveness of H1N1/09 monovalent and trivalent influenza vaccines against hospitalization with laboratory-confirmed H1N1/09 influenza in Australia: a test-negative case control study. *Vaccine*. 2011 Oct 6;29(43):7320-5. doi: 10.1016/j.vaccine.2011.07.087. Epub 2011 Jul 31. PMID: 21810450.

Chow EJ, Doyle JD, Uyeki TM. Influenza virus-related critical illness: prevention, diagnosis, treatment. *Crit Care*. 2019 Jun 12;23(1):214. doi: 10.1186/s13054-019-2491-9. PMID: 31189475; PMCID: PMC6563376.

Chowell G, Bertozzi SM, Colchero MA, Lopez-Gatell H, Alpuche-Aranda C, Hernandez M, Miller MA. Severe respiratory disease concurrent with the circulation of H1N1 influenza. *N Engl J Med*. 2009 Aug 13;361(7):674-9. doi: 10.1056/NEJMoa0904023. Epub 2009 Jun 29. PMID: 19564633.

Cillóniz C, Ewig S, Menéndez R, Ferrer M, Polverino E, Reyes S, Gabarrús A, Marcos MA, Cordoba J, Mensa J, Torres A. Bacterial co-infection with H1N1 infection in patients admitted with community acquired pneumonia. *J Infect*. 2012 Sep;65(3):223-30. doi: 10.1016/j.jinf.2012.04.009. Epub 2012 Apr 26. PMID: 22543245; PMCID: PMC7132402.

Cisterna R, Basaras M. Patogenia del virus gripal en el tracto respiratorio. *Vacunas* 2002;3(Supl. 1):5-8.

Cobey S, Hensley SE. Immune history and influenza virus susceptibility. *Curr Opin Virol*. 2017 Feb;22:105-111. doi: 10.1016/j.coviro.2016.12.004. Epub 2017 Jan 12. PMID: 28088686; PMCID: PMC5467731.

Cómo puede mutar el virus de la influenza: variaciones antigénicas menores y mayores [Internet]. CDC (Centers os Disease Control and Prevention. 2019 [citado 11 enero 2021]. Disponible en: <https://espanol.cdc.gov/flu/about/viruses/change.htm>

Cox CM, D'Mello T, Perez A, Reingold A, Gershman K, Yousey-Hindes K, Arnold KE, Farley MM, Ryan P, Lynfield R, Morin C, Baumbach J, Hancock EB, Zansky S, Bennett NM, Thomas A, Schaffner W, Finelli L; Emerging Infections Programs

Network. Increase in rates of hospitalization due to laboratory-confirmed influenza among children and adults during the 2009-10 influenza pandemic. *J Infect Dis.* 2012 Nov;206(9):1350-8. doi: 10.1093/infdis/jis517. Epub 2012 Sep 21. PMID: 23002448.

D

Dalton CB, Cretikos MA, Durrheim DN, Seppelt IM, Rawlinson WD, Dwyer DE. Comparison of adult patients hospitalised with pandemic (H1N1) 2009 influenza and seasonal influenza during the "PROTECT" phase of the pandemic response. *Med J Aust.* 2010 Mar 15;192(6):357-8; author reply 357. PMID: 20376993.

De Juanes Pardo JR, Arrazola Martínez MP, García de Codes Ilario A. Vacunación frente a la gripe por vía intradérmica. *Vacunas* 2010;11(4):143-5.

Dobson J, Whitley RJ, Pocock S, Monto AS. Oseltamivir treatment for influenza in adults: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Lancet.* 2015 May 2;385(9979):1729-1737. doi: 10.1016/S0140-6736(14)62449-1. Epub 2015 Jan 30. Erratum in: *Lancet.* 2015 May 2;385(9979):1728. Erratum in: *Lancet.* 2015 May 2;385(9979):1728. PMID: 25640810.

Dolin R. Clinical manifestations of seasonal influenza in adults. [Internet]. Uptodate. 2017 [citado 13 septiembre 2020]. Disponible en: <http://www.uptodate.com>.

Domínguez A, Castilla J, Godoy P, Delgado-Rodríguez M, Martín V, Saez M, Soldevila N, Quintana JM, Mayoral JM, Astray J, González-Candelas F, Cantón R, Tamames S, Castro A, Baricot M, Alonso J, Pumarola T; CIBERESP Cases and Controls in Pandemic Influenza Working Group Spain. Effectiveness of pandemic and seasonal influenza vaccines in preventing pandemic influenza-associated hospitalization. *Vaccine.* 2012 Aug 17;30(38):5644-50. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.06.090. Epub 2012 Jul 10. PMID: 22796136.

Dominguez-Cherit G, De la Torre A, Rishu A, Pinto R, Ñamendys-Silva SA, Camacho-Ortiz A, Silva-Medina MA, Hernández-Cárdenas C, Martínez-Franco M, Quesada-Sánchez A, López-Gallegos GC, Mosqueda-Gómez JL, Rivera-Martinez NE, Campos-Calderón F, Rivero-Sigarroa E, Hernández-Gilsoul T, Espinosa-Pérez L, Macías AE, Lue-Martínez DM, Buelna-Cano C, Ramírez-García Luna AS, Cruz-Ruiz NG, Poblano-Morales M, Molinar-Ramos F, Hernandez-Torre M, León-Gutiérrez MA, Rosaldo-Abundis O, Baltazar-Torres JÁ, Stelfox HT, Light B, Jouvét P, Reynolds S, Hall R, Shindo N, Daneman N, Fowler RA. Influenza A (H1N1pdm09)-Related Critical Illness and Mortality in Mexico and Canada, 2014. *Crit Care Med.* 2016 Oct;44(10):1861-70. doi: 10.1097/CCM.0000000000001830. PMID: 27359085.

Domínguez-Cherit G, Lapinsky SE, Macias AE, Pinto R, Espinosa-Perez L, de la Torre A, Poblano-Morales M, Baltazar-Torres JA, Bautista E, Martinez A, Martinez MA, Rivero E, Valdez R, Ruiz-Palacios G, Hernández M, Stewart TE, Fowler RA. Critically ill patients with 2009 influenza A(H1N1) in Mexico. *JAMA*. 2009 Nov 4;302(17):1880-7. doi: 10.1001/jama.2009.1536. Epub 2009 Oct 12. PMID: 19822626.

Donaldson LJ, Rutter PD, Ellis BM, Greaves FE, Mytton OT, Pebody RG, Yardley IE. Mortality from pandemic A/H1N1 2009 influenza in England: public health surveillance study. *BMJ*. 2009 Dec 10;339:b5213. doi: 10.1136/bmj.b5213. PMID: 20007665; PMCID: PMC2791802.

E

Eisenberg KW, Szilagyi PG, Fairbrother G, Griffin MR, Staat M, Shone LP, Weinberg GA, Hall CB, Poehling KA, Edwards KM, Lofthus G, Fisher SG, Bridges CB, Iwane MK; New Vaccine Surveillance Network. Vaccine effectiveness against laboratory-confirmed influenza in children 6 to 59 months of age during the 2003-2004 and 2004-2005 influenza seasons. *Pediatrics*. 2008 Nov;122(5):911-9. doi: 10.1542/peds.2007-3304. PMID: 18977968; PMCID: PMC3695734.

Emborg HD, Krause TG, Hviid A, Simonsen J, Mølbak K. Effectiveness of vaccine against pandemic influenza A/H1N1 among people with underlying chronic diseases: cohort study, Denmark, 2009-10. *BMJ*. 2011 Jan 25;344:d7901. doi: 10.1136/bmj.d7901. PMID: 22277542.

F

Fang Y, Banner D, Kelvin AA, Huang SS, Paige CJ, Corfe SA, Kane KP, Bleackley RC, Rowe T, Leon AJ, Kelvin DJ. Seasonal H1N1 influenza virus infection induces cross-protective pandemic H1N1 virus immunity through a CD8-independent, B cell-dependent mechanism. *J Virol*. 2012 Feb;86(4):2229-38. doi: 10.1128/JVI.05540-11. Epub 2011 Nov 30. PMID: 22130540; PMCID: PMC3302411.

Fielding JE, Grant KA, Garcia K, Kelly HA. Effectiveness of seasonal influenza vaccine against pandemic (H1N1) 2009 virus, Australia, 2010. *Emerg Infect Dis*. 2011 Jul;17(7):1181-7. doi: 10.3201/eid1707.101959. PMID: 21762570; PMCID: PMC3381383.

Fineberg HV. Pandemic preparedness and response--lessons from the H1N1 influenza of 2009. *N Engl J Med*. 2014 Apr 3;370(14):1335-42. doi: 10.1056/NEJMra1208802. Erratum in: *N Engl J Med*. 2015 Jan 8;372(2):197. PMID: 24693893.

Fowler RA, Adhikari NK, Bhagwanjee S. Clinical review: critical care in the global context--disparities in burden of illness, access, and economics. *Crit Care*. 2008;12(5):225. doi: 10.1186/cc6984. Epub 2008 Sep 9. PMID: 19014409; PMCID: PMC2592728.

Francis ME, King ML, Kelvin AA. Back to the Future for Influenza Preimmunity-Looking Back at Influenza Virus History to Infer the Outcome of Future Infections. *Viruses*. 2019 Jan 30;11(2):122. doi: 10.3390/v11020122. PMID: 30704019; PMCID: PMC6410066.

Francis, T.J. On the Doctrine of Original Antigenic Sin. *Proc. Am. Philos. Soc.* 1960, 104, 572–578.

G

Ganapathi Iyer Parameswaran, Sanjay Sethi, Chapter 25 - Viral Pneumonia, Editor(s): Stephen G. Spiro, Gerard A. Silvestri, Alvar Agustí, *Clinical Respiratory Medicine (Fourth Edition)*, W.B. Saunders, 2012, Pages 309-314, ISBN 9781455707928, <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-0792-8.00025-8>. (http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781455707928000258)

Godoy P, Castilla J, Mayoral JM, Delgado-Rodríguez M, Martín V, Astray J, Soldevila N, González-Candelas F, Castro A, Baricot M, Tamames S, Alonso J, Galán JC, Quintana JM, Pumarola T, Domínguez A; CIBERESP Cases and Controls in Pandemic Influenza Working Group, Spain. Smoking may increase the risk of hospitalization due to influenza. *Eur J Public Health*. 2016 Oct;26(5):882-887. doi: 10.1093/eurpub/ckw036. Epub 2016 Apr 16. PMID: 27085194.

Gostic KM, Ambrose M, Worobey M, Lloyd-Smith JO. Potent protection against H5N1 and H7N9 influenza via childhood hemagglutinin imprinting. *Science*. 2016 Nov 11;354(6313):722-726. doi: 10.1126/science.aag1322. PMID: 27846599; PMCID: PMC5134739.

Grant EJ, Quiñones-Parra SM, Clemens EB, Kedzierska K. Human influenza viruses and CD8(+) T cell responses. *Curr Opin Virol*. 2016 Feb;16:132-142. doi: 10.1016/j.coviro.2016.01.016. Epub 2016 Mar 12. Erratum in: *Curr Opin Virol*. 2016 Aug;19:99. PMID: 26974887.

Grennan D. What Is a Pandemic? *JAMA*. 2019 Mar 5;321(9):910. doi: 10.1001/jama.2019.0700. PMID: 30835310.

Grijalva CG, Zhu Y, Williams DJ, Self WH, Ampofo K, Pavia AT, Stockmann CR, McCullers J, Arnold SR, Wunderink RG, Anderson EJ, Lindstrom S, Fry AM, Foppa

IM, Finelli L, Bramley AM, Jain S, Griffin MR, Edwards KM. Association Between Hospitalization With Community-Acquired Laboratory-Confirmed Influenza Pneumonia and Prior Receipt of Influenza Vaccination. *JAMA*. 2015 Oct 13;314(14):1488-97. doi: 10.1001/jama.2015.12160. PMID: 26436611; PMCID: PMC4688454.

Guarner J, Falcón-Escobedo R. Comparison of the pathology caused by H1N1, H5N1, and H3N2 influenza viruses. *Arch Med Res*. 2009 Nov;40(8):655-61. doi: 10.1016/j.arcmed.2009.10.001. Epub 2010 Jan 6. PMID: 20304252.

Guihot A, Luyt CE, Parrot A, Rousset D, Cavaillon JM, Boutolleau D, Fitting C, Pajanirassa P, Mallet A, Fartoukh M, Agut H, Musset L, Zoorob R, Kirilovksy A, Combadière B, van der Werf S, Autran B, Carcelain G; FluBAL Study Group. Low titers of serum antibodies inhibiting hemagglutination predict fatal fulminant influenza A(H1N1) 2009 infection. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014 May 15;189(10):1240-9. doi: 10.1164/rccm.201311-2071OC. PMID: 24646009.

H

Han K, Ma H, An X, Su Y, Chen J, Lian Z, Zhao J, Zhu BP, Fontaine RE, Feng Z, Zeng G. Early use of glucocorticoids was a risk factor for critical disease and death from pH1N1 infection. *Clin Infect Dis*. 2011 Aug;53(4):326-33. doi: 10.1093/cid/cir398. PMID: 21810744.

Hancock K, Veguilla V, Lu X, Zhong W, Butler EN, Sun H, Liu F, Dong L, DeVos JR, Gargiullo PM, Brammer TL, Cox NJ, Tumpey TM, Katz JM. Cross-reactive antibody responses to the 2009 pandemic H1N1 influenza virus. *N Engl J Med*. 2009 Nov 12;361(20):1945-52. doi: 10.1056/NEJMoa0906453. Epub 2009 Sep 10. PMID: 19745214.

Hay AJ, Gregory V, Douglas AR, Lin YP. The evolution of human influenza viruses. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2001 Dec 29;356(1416):1861-70. doi: 10.1098/rstb.2001.0999. PMID: 11779385; PMCID: PMC1088562.

Hayward AC, Fragaszy EB, Bermingham A, Wang L, Copas A, Edmunds WJ, Ferguson N, Goonetilleke N, Harvey G, Kovar J, Lim MS, McMichael A, Millett ER, Nguyen-Van-Tam JS, Nazareth I, Pebody R, Tabassum F, Watson JM, Wurie FB, Johnson AM, Zambon M; Flu Watch Group. Comparative community burden and severity of seasonal and pandemic influenza: results of the Flu Watch cohort study. *Lancet Respir Med*. 2014 Jun;2(6):445-54. doi: 10.1016/S2213-2600(14)70034-7. Epub 2014 Mar 17. PMID: 24717637; PMCID: PMC7164821.

Hellenbrand W, Jorgensen P, Schweiger B, Falkenhorst G, Nachtnebel M,

Greutelaers B, Traeder C, Wichmann O. Prospective hospital-based case-control study to assess the effectiveness of pandemic influenza A(H1N1)pdm09 vaccination and risk factors for hospitalization in 2009-2010 using matched hospital and test-negative controls. *BMC Infect Dis.* 2012 May 31;12:127. doi: 10.1186/1471-2334-12-127. PMID: 22650369; PMCID: PMC3464893.

Henry C, Palm AE, Krammer F, Wilson PC. From Original Antigenic Sin to the Universal Influenza Virus Vaccine. *Trends Immunol.* 2018 Jan;39(1):70-79. doi: 10.1016/j.it.2017.08.003. Epub 2017 Aug 31. PMID: 28867526; PMCID: PMC5748348.

Honce R, Schultz-Cherry S. Impact of Obesity on Influenza A Virus Pathogenesis, Immune Response, and Evolution. *Front Immunol.* 2019 May 10;10:1071. doi: 10.3389/fimmu.2019.01071. PMID: 31134099; PMCID: PMC6523028.

Hufford MM, Kim TS, Sun J, Braciale TJ. Antiviral CD8+ T cell effector activities in situ are regulated by target cell type. *J Exp Med.* 2011 Jan 17;208(1):167-80. doi: 10.1084/jem.20101850. Epub 2010 Dec 27. PMID: 21187318; PMCID: PMC3023137.

I

Information on Rapid Molecular Assays, RT-PCR, and other Molecular Assays for Diagnosis of Influenza Virus Infection [Internet]. CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2019 [citado 5 enero 2021]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/flu/professionals/diagnosis/molecular-assays.htm>

Iwasaki A, Pillai PS. Innate immunity to influenza virus infection. *Nat Rev Immunol.* 2014 May;14(5):315-28. doi: 10.1038/nri3665. PMID: 24762827; PMCID: PMC4104278.

J

Jamieson AM, Pasmán L, Yu S, Gamradt P, Homer RJ, Decker T, Medzhitov R. Role of tissue protection in lethal respiratory viral-bacterial coinfection. *Science.* 2013 Jun 7;340(6137):1230-4. doi: 10.1126/science.1233632. Epub 2013 Apr 25. PMID: 23618765; PMCID: PMC3933032.

Jamieson DJ, Honein MA, Rasmussen SA, Williams JL, Swerdlow DL, Biggerstaff MS, Lindstrom S, Louie JK, Christ CM, Bohm SR, Fonseca VP, Ritger KA, Kuhles

DJ, Eggers P, Bruce H, Davidson HA, Lutterloh E, Harris ML, Burke C, Cocoros N, Finelli L, MacFarlane KF, Shu B, Olsen SJ; Novel Influenza A (H1N1) Pregnancy Working Group. H1N1 2009 influenza virus infection during pregnancy in the USA. *Lancet*. 2009 Aug 8;374(9688):451-8. doi: 10.1016/S0140-6736(09)61304-0. Epub 2009 Jul 28. PMID: 19643469.

Jimenez-Jorge S, Pozo F, de Mateo S, Delgado-Sanz C, Casas I, Garcia-Cenoz M, Castilla J, Sancho R, Etxebarriarteun-Aranzabal L, Quinones C, Martinez E, Vega T, Garcia A, Gimenez J, Vanrell JM, Castrillejo D, Larrauri A; Spanish Influenza Sentinel Surveillance System (SISS). Influenza vaccine effectiveness in Spain 2013/14: subtype-specific early estimates using the cycEVA study. *Euro Surveill*. 2014 Mar 6;19(9):20727. doi: 10.2807/1560-7917.es2014.19.9.20727. PMID: 24626206.

Jiménez-Jorge S, Savulescu C, Pozo F, de Mateo S, Casas I, Ledesma J, Larrauri A; cycEVA Study Team; Spanish Influenza Sentinel Surveillance System. Effectiveness of the 2010-11 seasonal trivalent influenza vaccine in Spain: cycEVA study. *Vaccine*. 2012 May 21;30(24):3595-602. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.03.048. Epub 2012 Mar 31. PMID: 22472792.

Jung HE, Lee HK. Host Protective Immune Responses against Influenza A Virus Infection. *Viruses*. 2020 May 3;12(5):504. doi: 10.3390/v12050504. PMID: 32375274; PMCID: PMC7291249. <https://doi.org/10.3390/v12050504>.

K

Katzen J, Kohn R, Houk JL, Ison MG. Early Oseltamivir After Hospital Admission Is Associated With Shortened Hospitalization: A 5-Year Analysis of Oseltamivir Timing and Clinical Outcomes. *Clin Infect Dis*. 2019 Jun 18;69(1):52-58. doi: 10.1093/cid/ciy860. PMID: 30304487.

Kidd M. Influenza viruses: update on epidemiology, clinical features, treatment and vaccination. *Curr Opin Pulm Med*. 2014 May;20(3):242-6. doi: 10.1097/MCP.000000000000049. PMID: 24637227.

Kilbourne ED. Influenza pandemics of the 20th century. *Emerg Infect Dis*. 2006 Jan;12(1):9-14. doi: 10.3201/eid1201.051254. PMID: 16494710; PMCID: PMC3291411.

Kim YH, Kim JK, Kim DJ, Nam JH, Shim SM, Choi YK, Lee CH, Poo H. Diet-induced obesity dramatically reduces the efficacy of a 2009 pandemic H1N1 vaccine in a mouse model. *J Infect Dis.* 2012 Jan 15;205(2):244-51. doi: 10.1093/infdis/jir731. Epub 2011 Dec 5. Erratum in: *J Infect Dis.* 2012 Apr;205(8):1330. PMID: 22147801.

Kirchenbaum GA, Carter DM, Ross TM. Sequential Infection in Ferrets with Antigenically Distinct Seasonal H1N1 Influenza Viruses Boosts Hemagglutinin Stalk-Specific Antibodies. *J Virol.* 2015 Nov 11;90(2):1116-28. doi: 10.1128/JVI.02372-15. PMID: 26559834; PMCID: PMC4702689.

Kissling E, Valenciano M, Cohen JM, Oroszi B, Barret AS, Rizzo C, Stefanoff P, Nunes B, Pitigoi D, Larrauri A, Daviaud I, Horvath JK, O'Donnell J, Seyler T, Paradowska-Stankiewicz IA, Pechirra P, Ivanciuc AE, Jiménez-Jorge S, Savulescu C, Ciancio BC, Moren A. I-MOVE multi-centre case control study 2010-11: overall and stratified estimates of influenza vaccine effectiveness in Europe. *PLoS One.* 2011;6(11):e27622. doi: 10.1371/journal.pone.0027622. Epub 2011 Nov 15. PMID: 22110695; PMCID: PMC3216983.

Kok J, Blyth CC, Foo H, Bailey MJ, Pilcher DV, Webb SA, Seppelt IM, Dwyer DE, Iredell JR. Viral pneumonitis is increased in obese patients during the first wave of pandemic A(H1N1) 2009 virus. *PLoS One.* 2013;8(2):e55631. doi: 10.1371/journal.pone.0055631. Epub 2013 Feb 13. PMID: 23418448; PMCID: PMC3572103.

Krammer F, Palese P. Influenza virus hemagglutinin stalk-based antibodies and vaccines. *Curr Opin Virol.* 2013 Oct;3(5):521-30. doi: 10.1016/j.coviro.2013.07.007. Epub 2013 Aug 24. PMID: 23978327; PMCID: PMC3804342.

Kumar A, Zarychanski R, Pinto R, Cook DJ, Marshall J, Lacroix J, Stelfox T, Bagshaw S, Choong K, Lamontagne F, Turgeon AF, Lapinsky S, Ahern SP, Smith O, Siddiqui F, Jouvett P, Khwaja K, McIntyre L, Menon K, Hutchison J, Hornstein D, Joffe A, Lauzier F, Singh J, Karachi T, Wiebe K, Olafson K, Ramsey C, Sharma S, Dodek P, Meade M, Hall R, Fowler RA; Canadian Critical Care Trials Group H1N1 Collaborative. Critically ill patients with 2009 influenza A(H1N1) infection in Canada. *JAMA.* 2009 Nov 4;302(17):1872-9. doi: 10.1001/jama.2009.1496. Epub 2009 Oct 12. PMID: 19822627.

L

Lee N, Chan PK, Lui GC, Wong BC, Sin WW, Choi KW, Wong RY, Lee EL, Yeung AC, Ngai KL, Chan MC, Lai RW, Yu AW, Hui DS. Complications and outcomes of pandemic 2009 Influenza A (H1N1) virus infection in hospitalized adults: how do they

differ from those in seasonal influenza? *J Infect Dis.* 2011 Jun 15;203(12):1739-47. doi: 10.1093/infdis/jir187. PMID: 21606532.

Lee N, Choi KW, Chan PK, Hui DS, Lui GC, Wong BC, Wong RY, Sin WY, Hui WM, Ngai KL, Cockram CS, Lai RW, Sung JJ. Outcomes of adults hospitalised with severe influenza. *Thorax.* 2010 Jun;65(6):510-5. doi: 10.1136/thx.2009.130799. PMID: 20522848.

Lehners N, Geis S, Eisenbach C, Neben K, Schnitzler P. Changes in severity of influenza A(H1N1)pdm09 infection from pandemic to first postpandemic season, Germany. *Emerg Infect Dis.* 2013 May;19(5):748-55. doi: 10.3201/eid1905.130034. PMID: 23697801; PMCID: PMC3647517.

León AJ, Banner D, Xu L, Ran L, Peng Z, Yi K, Chen C, Xu F, Huang J, Zhao Z, Lin Z, Huang SH, Fang Y, Kelvin AA, Ross TM, Farooqui A, Kelvin DJ. Sequencing, annotation, and characterization of the influenza ferret infectome. *J Virol.* 2013 Feb;87(4):1957-66. doi: 10.1128/JVI.02476-12. Epub 2012 Dec 12. PMID: 23236062; PMCID: PMC3571481.

Lewnard JA, Cobey S. Immune History and Influenza Vaccine Effectiveness. *Vaccines (Basel).* 2018 May 21;6(2):28. doi: 10.3390/vaccines6020028. PMID: 29883414; PMCID: PMC6027411.

Louie JK, Yang S, Acosta M, Yen C, Samuel MC, Schechter R, Guevara H, Uyeki TM. Treatment with neuraminidase inhibitors for critically ill patients with influenza A (H1N1)pdm09. *Clin Infect Dis.* 2012 Nov;55(9):1198-204. doi: 10.1093/cid/cis636. Epub 2012 Jul 26. PMID: 22843781.

Lüthy IA, Ritacco V, Kantor IN. A cien años de la gripe "española" [One hundred years after the "Spanish" flu]. *Medicina (B Aires).* 2018;78(2):113-118. Spanish. PMID: 29659361.

M

Ma W, García-Sastre A, Schwemmler M (2015) Expected and Unexpected Features of the Newly Discovered Bat Influenza A-like Viruses. *PLoS Pathog* 11(6): e1004819. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004819>.

Malosh RE, Martin ET, Heikkinen T, Brooks WA, Whitley RJ, Monto AS. Efficacy and Safety of Oseltamivir in Children: Systematic Review and Individual Patient Data Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Clin Infect Dis.* 2018 May 2;66(10):1492-1500. doi: 10.1093/cid/cix1040. PMID: 29186364.

Martín-Loeches I, Sanchez-Corral A, Diaz E, Granada RM, Zaragoza R, Villavicencio

C, Albaya A, Cerdá E, Catalán RM, Luque P, Paredes A, Navarrete I, Rello J, Rodríguez A; H1N1 SEMICYUC Working Group. Community-acquired respiratory coinfection in critically ill patients with pandemic 2009 influenza A(H1N1) virus. *Chest*. 2011 Mar;139(3):555-562. doi: 10.1378/chest.10-1396. Epub 2010 Oct 7. PMID: 20930007.

McKinstry KK, Strutt TM, Buck A, Curtis JD, Dibble JP, Huston G, Tighe M, Hamada H, Sell S, Dutton RW, Swain SL. IL-10 deficiency unleashes an influenza-specific Th17 response and enhances survival against high-dose challenge. *J Immunol*. 2009 Jun 15;182(12):7353-63. doi: 10.4049/jimmunol.0900657. PMID: 19494257; PMCID: PMC2724021.

Meningher T, Hindiyeh M, Regev L, Sherbany H, Mendelson E, Mandelboim M. Relationships between A(H1N1)pdm09 influenza infection and infections with other respiratory viruses. *Influenza Other Respir Viruses*. 2014 Jul;8(4):422-30. doi: 10.1111/irv.12249. Epub 2014 Apr 4. PMID: 24698156; PMCID: PMC4181801.

Mertz D, Kim TH, Johnstone J, Lam PP, Science M, Kuster SP, Fadel SA, Tran D, Fernandez E, Bhatnagar N, Loeb M. Populations at risk for severe or complicated influenza illness: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2013 Aug 23;347:f5061. doi: 10.1136/bmj.f5061. PMID: 23974637; PMCID: PMC3805492.

Miller MS, Gardner TJ, Krammer F, Aguado LC, Tortorella D, Basler CF, Palese P. Neutralizing antibodies against previously encountered influenza virus strains increase over time: a longitudinal analysis. *Sci Transl Med*. 2013 Aug 14;5(198):198ra107. doi: 10.1126/scitranslmed.3006637. PMID: 23946196; PMCID: PMC4091683.

Minney-Smith CA, Selvey LA, Levy A, Smith DW. Post-pandemic influenza A/H1N1pdm09 is associated with more severe outcomes than A/H3N2 and other respiratory viruses in adult hospitalisations. *Epidemiol Infect*. 2019 Nov 28;147:e310. doi: 10.1017/S095026881900195X. PMID: 31775940; PMCID: PMC7003621.

Monto AS. Seasonal influenza and vaccination coverage. *Vaccine*. 2010 Sep 7;28 Suppl 4:D33-44. doi: 10.1016/j.vaccine.2010.08.027. PMID: 20713259.

Moreno G, Rodríguez A, Reyes LF, Gomez J, Sole-Violan J, Díaz E, Bodí M, Trefler S, Guardiola J, Yébenes JC, Soriano A, Garnacho-Montero J, Socias L, Del Valle Ortíz M, Correig E, Marín-Corral J, Vallverdú-Vidal M, Restrepo MI, Torres A, Martín-Loeches I; GETGAG Study Group. Corticosteroid treatment in critically ill patients with severe influenza pneumonia: a propensity score matching study. *Intensive Care Med*. 2018 Sep;44(9):1470-1482. doi: 10.1007/s00134-018-5332-4. Epub 2018 Aug 3. PMID: 30074052; PMCID: PMC7095489.

Morens DM, Taubenberger JK, Fauci AS. Predominant role of bacterial pneumonia as a cause of death in pandemic influenza: implications for pandemic influenza preparedness. *J Infect Dis.* 2008 Oct 1;198(7):962-70. doi: 10.1086/591708. PMID: 18710327; PMCID: PMC2599911.

Mullooly JP, Bridges CB, Thompson WW, Chen J, Weintraub E, Jackson LA, Black S, Shay DK; Vaccine Safety Datalink Adult Working Group. Influenza- and RSV-associated hospitalizations among adults. *Vaccine.* 2007 Jan 15;25(5):846-55. doi: 10.1016/j.vaccine.2006.09.041. Epub 2006 Sep 25. PMID: 17074423.

Muthuri SG, Venkatesan S, Myles PR, Leonardi-Bee J, Al Khuwaitir TS, Al Mamun A, Anovadiya AP, Azziz-Baumgartner E, Báez C, Bassetti M, Beovic B, Bertisch B, Bonmarin I, Booy R, Borja-Aburto VH, Burgmann H, Cao B, Carratala J, Denholm JT, Dominguez SR, Duarte PA, Dubnov-Raz G, Echavarría M, Fanella S, Gao Z, Gérardin P, Giannella M, Gubbels S, Herberg J, Iglesias AL, Hoger PH, Hu X, Islam QT, Jiménez MF, Kandeel A, Keijzers G, Khalili H, Knight M, Kudo K, Kuszniarz G, Kuzman I, Kwan AM, Amine IL, Langenegger E, Lankarani KB, Leo YS, Linko R, Liu P, Madanat F, Mayo-Montero E, McGeer A, Memish Z, Metan G, Mickiene A, Mikić D, Mohn KG, Moradi A, Nymadawa P, Oliva ME, Ozkan M, Parekh D, Paul M, Polack FP, Rath BA, Rodríguez AH, Sarrouf EB, Seale AC, Sertogullarindan B, Siqueira MM, Skręć-Magierło J, Stephan F, Talarek E, Tang JW, To KK, Torres A, Törün SH, Tran D, Uyeki TM, Van Zwol A, Vaudry W, Vidmar T, Yokota RT, Zarogoulidis P; PRIDE Consortium Investigators, Nguyen-Van-Tam JS. Effectiveness of neuraminidase inhibitors in reducing mortality in patients admitted to hospital with influenza A H1N1pdm09 virus infection: a meta-analysis of individual participant data. *Lancet Respir Med.* 2014 May;2(5):395-404. doi: 10.1016/S2213-2600(14)70041-4. Epub 2014 Mar 19. PMID: 24815805; PMCID: PMC6637757.

N

Napolitano LM, Angus DC, Uyeki TM. Critically ill patients with influenza A(H1N1)pdm09 virus infection in 2014. *JAMA.* 2014 Apr 2;311(13):1289-90. doi: 10.1001/jama.2014.2116. PMID: 24566924; PMCID: PMC6689404.

Neu KE, Wilson PC. Taking the Broad View on B Cell Affinity Maturation. *Immunity.* 2016 Mar 15;44(3):518-520. doi: 10.1016/j.immuni.2016.03.001. PMID: 26982359.

Newspaper Archive [Internet]. Washington Times Newspaper. 1918 [citado 12 octubre 2020]. Disponible en: <https://newspaperarchive.com/washington-times-sep-27-1918-p-3/>.

O

Ortqvist A, Berggren I, Insulander M, de Jong B, Svenungsson B. Effectiveness of an

adjuvanted monovalent vaccine against the 2009 pandemic strain of influenza A(H1N1)v, in Stockholm County, Sweden. *Clin Infect Dis*. 2011 May;52(10):1203-11. doi: 10.1093/cid/cir182. PMID: 21507917.

Osterholm MT, Kelley NS, Sommer A, Belongia EA. Efficacy and effectiveness of influenza vaccines: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2012 Jan;12(1):36-44. doi: 10.1016/S1473-3099(11)70295-X. Epub 2011 Oct 25. Erratum in: *Lancet Infect Dis*. 2012 Sep;12(9):655. PMID: 22032844.

P

Pai MP, Lodise TP Jr. Oseltamivir and oseltamivir carboxylate pharmacokinetics in obese adults: dose modification for weight is not necessary. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011 Dec;55(12):5640-5. doi: 10.1128/AAC.00422-11. Epub 2011 Sep 19. PMID: 21930881; PMCID: PMC3232799.

Palese P, Wang TT. Why do influenza virus subtypes die out? A hypothesis. *mBio*. 2011 Aug 30;2(5):e00150-11. doi: 10.1128/mBio.00150-11. PMID: 21878571; PMCID: PMC3163940.

Pebody RG, Andrews N, Fleming DM, McMenamin J, Cottrell S, Smyth B, Durnall H, Robertson C, Carman W, Ellis J, Sebastian-Pillai P, Zambon M, Kearns C, Moore C, Thomas DR, Watson JM. Age-specific vaccine effectiveness of seasonal 2010/2011 and pandemic influenza A(H1N1) 2009 vaccines in preventing influenza in the United Kingdom. *Epidemiol Infect*. 2013 Mar;141(3):620-30. doi: 10.1017/S0950268812001148. Epub 2012 Jun 13. PMID: 22691710.

Pelat C, Falchi A, Carrat F, Mosnier A, Bonmarin I, Turbelin C, Vaux S, van der Werf S, Cohen JM, Lina B, Blanchon T, Hanslik T. Field effectiveness of pandemic and 2009-2010 seasonal vaccines against 2009-2010 A(H1N1) influenza: estimations from surveillance data in France. *PLoS One*. 2011 May 10;6(5):e19621. doi: 10.1371/journal.pone.0019621. PMID: 21573005; PMCID: PMC3091864.

Pellegrini M, Nicolay U, Lindert K, Groth N, Della Cioppa G. MF59-adjuvanted versus non-adjuvanted influenza vaccines: integrated analysis from a large safety database. *Vaccine*. 2009 Nov 16;27(49):6959-65. doi: 10.1016/j.vaccine.2009.08.101. Epub 2009 Sep 12. PMID: 19751689.

Pica N, Palese P. Toward a universal influenza virus vaccine: prospects and challenges. *Annu Rev Med*. 2013;64:189-202. doi: 10.1146/annurev-med-120611-145115. PMID: 23327522.

Puig-Barberà J, Díez-Domingo J, Arnedo-Pena A, Ruiz-García M, Pérez-Vilar S, Micó-Esparza JL, Belenguier-Varea A, Carratalá-Munuera C, Gil-Guillén V, Schwarz-

Chavarri H. Effectiveness of the 2010-2011 seasonal influenza vaccine in preventing confirmed influenza hospitalizations in adults: a case-case comparison, case-control study. *Vaccine*. 2012 Aug 24;30(39):5714-20. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.07.006. Epub 2012 Jul 20. PMID: 22819720; PMCID: PMC7115682.

Pueyo A, Viejo JL. Manual SEPAR Neumología y Cirugía Torácica. Capítulo 50: Gripe y otras viriasis respiratorias. 1º edición. España, 2018. ISBN: 978-84-09-01621-1.

Pulendran B, Maddur MS. Innate immune sensing and response to influenza. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2015;386:23-71. doi: 10.1007/82_2014_405. PMID: 25078919; PMCID: PMC4346783.

R

Radigan KA, Mutlu GM. Markers of prognosis specific to influenza infection: are we there yet? *Am J Respir Crit Care Med*. 2014 May 15;189(10):1159-60. doi: 10.1164/rccm.201403-0587ED. PMID: 24832741.

Rahamat-Langendoen JC, Tutuhaturunwa ED, Schölvinck EH, Hak E, Koopmans M, Niesters HG, Riezebos-Brilman A. Influenza in the immediate post-pandemic era: a comparison with seasonal and pandemic influenza in hospitalized patients. *J Clin Virol*. 2012 Jun;54(2):135-40. doi: 10.1016/j.jcv.2012.02.010. Epub 2012 Mar 6. PMID: 22398034.

Recomendaciones de vacunación actuales acordadas en el Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud -CISNS- [Internet]. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. (2020, diciembre) [citado 10 enero 2021]. Disponible en: <https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/vacunas/profesionales/gripe.htm>

Reed C, Chaves SS, Perez A, D'Mello T, Daily Kirley P, Aragon D, Meek JI, Farley MM, Ryan P, Lynfield R, Morin CA, Hancock EB, Bennett NM, Zansky SM, Thomas A, Lindegren ML, Schaffner W, Finelli L. Complications among adults hospitalized with influenza: a comparison of seasonal influenza and the 2009 H1N1 pandemic. *Clin Infect Dis*. 2014 Jul 15;59(2):166-74. doi: 10.1093/cid/ciu285. Epub 2014 Apr 29. PMID: 24785230; PMCID: PMC7314251.

Rello J, Rodríguez A, Ibañez P, Socias L, Cebrian J, Marques A, Guerrero J, Ruiz-Santana S, Marquez E, Del Nogal-Saez F, Alvarez-Lerma F, Martínez S, Ferrer M, Avellanas M, Granada R, Maraví-Poma E, Albert P, Sierra R, Vidaur L, Ortiz P, Prieto del Portillo I, Galván B, León-Gil C; H1N1 SEMICYUC Working Group. Intensive care adult patients with severe respiratory failure caused by Influenza A (H1N1)v in Spain. *Crit Care*. 2009;13(5):R148. doi: 10.1186/cc8044. Epub 2009 Sep

11. PMID: 19747383; PMCID: PMC2784367.

Rice TW, Rubinson L, Uyeki TM, Vaughn FL, John BB, Miller RR 3rd, Higgs E, Randolph AG, Smoot BE, Thompson BT; NHLBI ARDS Network. Critical illness from 2009 pandemic influenza A virus and bacterial coinfection in the United States. *Crit Care Med*. 2012 May;40(5):1487-98. doi: 10.1097/CCM.0b013e3182416f23. PMID: 22511131; PMCID: PMC3653183.

Rowe T, León AJ, Crevar CJ, Carter DM, Xu L, Ran L, Fang Y, Cameron CM, Cameron MJ, Banner D, Ng DC, Ran R, Weirback HK, Wiley CA, Kelvin DJ, Ross TM. Modeling host responses in ferrets during A/California/07/2009 influenza infection. *Virology*. 2010 Jun 5;401(2):257-65. doi: 10.1016/j.virol.2010.02.020. Epub 2010 Mar 23. PMID: 20334888; PMCID: PMC2862141.

S

Sakurambo. Influenza Nomenclature Diagram [Internet]. Wikipedia. 2018 [citado 10 enero 2021]. Disponible en:
<https://ia.m.wikipedia.org/wiki/File:InfluenzaNomenclatureDiagram.svg>.

Santa-Olalla Peralta P, Cortes-García M, Vicente-Herrero M, Castrillo-Villamandos C, Arias-Bohigas P, Pachon-del Amo I, Sierra-Moros MJ; Surveillance Group for New Influenza A(H1N1) Virus Investigation and Control Team in Spain. Risk factors for disease severity among hospitalised patients with 2009 pandemic influenza A (H1N1) in Spain, April - December 2009. *Euro Surveill*. 2010 Sep 23;15(38):19667. doi: 10.2807/ese.15.38.19667-en. PMID: 20929651.

Sherbany H, McCauley J, Meningher T, Hindiyeh M, Dichtiar R, Markovich MP, Mendelson E, Mandelboim M. Return of pandemic H1N1 influenza virus. *BMC Infect Dis*. 2014 Dec 31;14:710. doi: 10.1186/s12879-014-0710-1. PMID: 25551676; PMCID: PMC4375933.

Shieh WJ, Blau DM, Denison AM, Deleon-Carnes M, Adem P, Bhatnagar J, Sumner J, Liu L, Patel M, Batten B, Greer P, Jones T, Smith C, Bartlett J, Montague J, White E, Rollin D, Gao R, Seales C, Jost H, Metcalfe M, Goldsmith CS, Humphrey C, Schmitz A, Drew C, Paddock C, Uyeki TM, Zaki SR. 2009 pandemic influenza A (H1N1): pathology and pathogenesis of 100 fatal cases in the United States. *Am J Pathol*. 2010 Jul;177(1):166-75. doi: 10.2353/ajpath.2010.100115. Epub 2010 May 27. PMID: 20508031; PMCID: PMC2893660.

Shrestha SS, Swerdlow DL, Borse RH, Prabhu VS, Finelli L, Atkins CY, Owusu-Eduesei K, Bell B, Mead PS, Biggerstaff M, Brammer L, Davidson H, Jernigan D, Jhung MA, Kamimoto LA, Merlin TL, Nowell M, Redd SC, Reed C, Schuchat A, Meltzer MI. Estimating the burden of 2009 pandemic influenza A (H1N1) in the

United States (April 2009-April 2010). *Clin Infect Dis*. 2011 Jan 1;52 Suppl 1:S75-82. doi: 10.1093/cid/ciq012. PMID: 21342903.

Simonsen L, Clarke MJ, Schonberger LB, Arden NH, Cox NJ, Fukuda K. Pandemic versus epidemic influenza mortality: a pattern of changing age distribution. *J Infect Dis*. 1998 Jul;178(1):53-60. doi: 10.1086/515616. PMID: 9652423.

Simpson CR, Ritchie LD, Robertson C, Sheikh A, McMenamin J. Vaccine effectiveness in pandemic influenza - primary care reporting (VIPER): an observational study to assess the effectiveness of the pandemic influenza A (H1N1)v vaccine. *Health Technol Assess*. 2010 Jul;14(34):313-46. doi: 10.3310/hta14340-05. PMID: 20630126.

Siston AM, Rasmussen SA, Honein MA, Fry AM, Seib K, Callaghan WM, Louie J, Doyle TJ, Crockett M, Lynfield R, Moore Z, Wiedeman C, Anand M, Tabony L, Nielsen CF, Waller K, Page S, Thompson JM, Avery C, Springs CB, Jones T, Williams JL, Newsome K, Finelli L, Jamieson DJ; Pandemic H1N1 Influenza in Pregnancy Working Group. Pandemic 2009 influenza A(H1N1) virus illness among pregnant women in the United States. *JAMA*. 2010 Apr 21;303(15):1517-25. doi: 10.1001/jama.2010.479. PMID: 20407061; PMCID: PMC5823273.

Skowronski DM, De Serres G, Dickinson J, Petric M, Mak A, Fonseca K, Kwindt TL, Chan T, Bastien N, Charest H, Li Y. Component-specific effectiveness of trivalent influenza vaccine as monitored through a sentinel surveillance network in Canada, 2006-2007. *J Infect Dis*. 2009 Jan 15;199(2):168-79. doi: 10.1086/595862. PMID: 19086914.

Smetana J, Chlibek R, Shaw J, Splino M, Prymula R. Influenza vaccination in the elderly. *Hum Vaccin Immunother*. 2018 Mar 4;14(3):540-549. doi: 10.1080/21645515.2017.1343226. Epub 2017 Aug 4. PMID: 28708957; PMCID: PMC5861798.

Smith KG, Light A, Nossal GJ, Tarlinton DM. The extent of affinity maturation differs between the memory and antibody-forming cell compartments in the primary immune response. *EMBO J*. 1997 Jun 2;16(11):2996-3006. doi: 10.1093/emboj/16.11.2996. PMID: 9214617; PMCID: PMC1169918.

Sun JC, Beilke JN, Lanier LL. Immune memory redefined: characterizing the longevity of natural killer cells. *Immunol Rev*. 2010 Jul;236:83-94. doi: 10.1111/j.1600-065X.2010.00900.x. PMID: 20636810; PMCID: PMC2907527.

Sun J, Madan R, Karp CL, Braciale TJ. Effector T cells control lung inflammation during acute influenza virus infection by producing IL-10. *Nat Med*. 2009 Mar;15(3):277-84. doi: 10.1038/nm.1929. Epub 2009 Feb 22. PMID: 19234462;

PMCID: PMC2693210.

Szilagyi PG, Fairbrother G, Griffin MR, Hornung RW, Donauer S, Morrow A, Altaye M, Zhu Y, Ambrose S, Edwards KM, Poehling KA, Lofthus G, Holloway M, Finelli L, Iwane M, Staat MA; New Vaccine Surveillance Network. Influenza vaccine effectiveness among children 6 to 59 months of age during 2 influenza seasons: a case-cohort study. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2008 Oct;162(10):943-51. doi: 10.1001/archpedi.162.10.943. PMID: 18838647.

T

Talbot HK, Griffin MR, Chen Q, Zhu Y, Williams JV, Edwards KM. Effectiveness of seasonal vaccine in preventing confirmed influenza-associated hospitalizations in community dwelling older adults. *J Infect Dis.* 2011 Feb 15;203(4):500-8. doi: 10.1093/infdis/jiq076. Epub 2011 Jan 10. PMID: 21220776; PMCID: PMC3071231.

Tan GS, Lee PS, Hoffman RM, Mazel-Sanchez B, Krammer F, Leon PE, Ward AB, Wilson IA, Palese P. Characterization of a broadly neutralizing monoclonal antibody that targets the fusion domain of group 2 influenza A virus hemagglutinin. *J Virol.* 2014 Dec;88(23):13580-92. doi: 10.1128/JVI.02289-14. Epub 2014 Sep 10. PMID: 25210195; PMCID: PMC4248980.

Taubenberger JK, Reid AH, Janczewski TA, Fanning TG. Integrating historical, clinical and molecular genetic data in order to explain the origin and virulence of the 1918 Spanish influenza virus. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2001 Dec 29;356(1416):1829-39. doi: 10.1098/rstb.2001.1020. PMID: 11779381; PMCID: PMC1088558.

Taylor G, Abdesselam K, Pelude L, Fernandes R, Mitchell R, McGeer A, Frenette C, Suh KN, Wong A, Katz K, Wilkinson K, Mersereau T, Gravel D; Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program (CNISP). Epidemiological features of influenza in Canadian adult intensive care unit patients. *Epidemiol Infect.* 2016 Mar;144(4):741-50. doi: 10.1017/S0950268815002113. Epub 2015 Sep 18. PMID: 26384310; PMCID: PMC4762243.

Thorne-Humphrey LM, Goralski KB, Slayter KL, Hatchette TF, Johnston BL, McNeil SA; 2009 OPTIMO Study Group. Oseltamivir pharmacokinetics in morbid obesity (OPTIMO trial). *J Antimicrob Chemother.* 2011 Sep;66(9):2083-91. doi: 10.1093/jac/dkr257. Epub 2011 Jun 23. PMID: 21700623.

Treanor JJ, Talbot HK, Ohmit SE, Coleman LA, Thompson MG, Cheng PY, Petrie JG, Lofthus G, Meece JK, Williams JV, Berman L, Breese Hall C, Monto AS, Griffin MR, Belongia E, Shay DK; US Flu-VE Network. Effectiveness of seasonal influenza vaccines in the United States during a season with circulation of all three vaccine

strains. *Clin Infect Dis*. 2012 Oct;55(7):951-9. doi: 10.1093/cid/cis574. Epub 2012 Jul 25. PMID: 22843783; PMCID: PMC3657521.

Tumpey TM, Basler CF, Aguilar PV, Zeng H, Solórzano A, Swayne DE, Cox NJ, Katz JM, Taubenberger JK, Palese P, García-Sastre A. Characterization of the reconstructed 1918 Spanish influenza pandemic virus. *Science*. 2005 Oct 7;310(5745):77-80. doi: 10.1126/science.1119392. PMID: 16210530.

U

Uyeki TM, Bernstein HH, Bradley JS, Englund JA, File TM, Fry AM, Gravenstein S, Hayden FG, Harper SA, Hirshon JM, Ison MG, Johnston BL, Knight SL, McGeer A, Riley LE, Wolfe CR, Alexander PE, Pavia AT. Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America: 2018 Update on Diagnosis, Treatment, Chemoprophylaxis, and Institutional Outbreak Management of Seasonal Influenza. *Clin Infect Dis*. 2019 Mar 5;68(6):895-902. doi: 10.1093/cid/ciy874. PMID: 30834445; PMCID: PMC6769232.

V

van den Brand JM, Stittelaar KJ, van Amerongen G, Reperant L, de Waal L, Osterhaus AD, Kuiken T. Comparison of temporal and spatial dynamics of seasonal H3N2, pandemic H1N1 and highly pathogenic avian influenza H5N1 virus infections in ferrets. *PLoS One*. 2012;7(8):e42343. doi: 10.1371/journal.pone.0042343. Epub 2012 Aug 8. PMID: 22905124; PMCID: PMC3414522.

Van Kerkhove MD, Vandemaële KA, Shinde V, Jaramillo-Gutierrez G, Koukounari A, Donnelly CA, Carlino LO, Owen R, Paterson B, Pelletier L, Vachon J, Gonzalez C, Hongjie Y, Zijian F, Chuang SK, Au A, Buda S, Krause G, Haas W, Bonmarin I, Taniguchi K, Nakajima K, Shobayashi T, Takayama Y, Sunagawa T, Heraud JM, Orelle A, Palacios E, van der Sande MA, Wielders CC, Hunt D, Cutter J, Lee VJ, Thomas J, Santa-Olalla P, Sierra-Moros MJ, Hanshaoworakul W, Ungchusak K, Pebody R, Jain S, Mounts AW; WHO Working Group for Risk Factors for Severe H1N1pdm Infection. Risk factors for severe outcomes following 2009 influenza A (H1N1) infection: a global pooled analysis. *PLoS Med*. 2011 Jul;8(7):e1001053. doi: 10.1371/journal.pmed.1001053. Epub 2011 Jul 5. PMID: 21750667; PMCID: PMC3130021.

Viasus D, Cordero E, Rodríguez-Baño J, Oteo JA, Fernández-Navarro A, Ortega L, Gracia-Ahufinger I, Fariñas MC, García-Almodovar E, Payeras A, Paño-Pardo JR, Muñoz-Rubio E, Carratalà J; Novel Influenza A (H1N1) Study Group of the Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI). Changes in epidemiology, clinical features and severity of influenza A (H1N1) 2009 pneumonia in the first post-pandemic influenza season. *Clin Microbiol Infect*. 2012 Mar;18(3):E55-62. doi:

10.1111/j.1469-0691.2011.03753.x. Epub 2012 Jan 20. PMID: 22264321.

W

Wabe N, Li L, Lindeman R, Yimsung R, Dahm MR, Clezy K, McLennan S, Westbrook J, Georgiou A. The impact of rapid molecular diagnostic testing for respiratory viruses on outcomes for emergency department patients. *Med J Aust.* 2019 Apr;210(7):316-320. doi: 10.5694/mja2.50049. Epub 2019 Mar 5. PMID: 30838671; PMCID: PMC6617970.

Waithman J, Mintern JD. Dendritic cells and influenza A virus infection. *Virulence.* 2012 Nov 15;3(7):603-8. doi: 10.4161/viru.21864. Epub 2012 Oct 17. PMID: 23076333; PMCID: PMC3545942.

Weil M, Shohat T, Bromberg M, Bassal R, Dichtiar R, Mandelboim M, Sofer D, Cohen D, Mendelson E. The dynamics of infection and the persistence of immunity to A(H1N1)pdm09 virus in Israel. *Influenza Other Respir Viruses.* 2013 Sep;7(5):838-46. doi: 10.1111/irv.12071. Epub 2012 Dec 22. PMID: 23280061; PMCID: PMC5781219.

Wertheim JO. The re-emergence of H1N1 influenza virus in 1977: a cautionary tale for estimating divergence times using biologically unrealistic sampling dates. *PLoS One.* 2010 Jun 17;5(6):e11184. doi: 10.1371/journal.pone.0011184. PMID: 20567599; PMCID: PMC2887442.

WHO Flumart Outputs [Internet]. WHO (World Health Organization). 1995 [citado 11 enero 2021]. Disponible en: <https://apps.who.int/flumart/Default?ReportNo=7>

Widdowson MA, Iuliano AD, Dawood FS. Challenges to global pandemic mortality estimation. *Lancet Infect Dis.* 2014 Aug;14(8):670-672. doi: 10.1016/S1473-3099(14)70835-7. PMID: 25056013.

Wilschut JC, McElhaney JE, Palache AM. *Influenza (Patogénesis, características clínicas y diagnóstico.)* 2.^a ed. Wilschut; 2006.

Wong KK, Jain S, Blanton L, Dhara R, Brammer L, Fry AM, Finelli L. Influenza-associated pediatric deaths in the United States, 2004-2012. *Pediatrics.* 2013 Nov;132(5):796-804. doi: 10.1542/peds.2013-1493. Epub 2013 Oct 28. PMID: 24167165; PMCID: PMC6027595.

Worobey M, Han GZ, Rambaut A. Genesis and pathogenesis of the 1918 pandemic

H1N1 influenza A virus. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Jun 3;111(22):8107-12. doi: 10.1073/pnas.1324197111. Epub 2014 Apr 28. PMID: 24778238; PMCID: PMC4050607.

Y

Yap J, Tan CH, Cook AR, Loh JP, Tambyah PA, Tan BH, Lee VJ. Differing clinical characteristics between influenza strains among young healthy adults in the tropics. BMC Infect Dis. 2012 Jan 20;12:12. doi: 10.1186/1471-2334-12-12. PMID: 22264216; PMCID: PMC3282647.