



Grip A(H1N1)pdm09: Malaltia moderada i greu en el pacient pediàtric. Utilitat de la càrrega viral com a biomarcador de gravetat

Cristian Launes Montaña

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

“Grip A(H1N1)pdm09: Malaltia moderada i greu en el pacient pediàtric. Utilitat de la càrrega viral com a biomarcador de gravetat”.

Memòria presentada per

Cristian LAUNES MONTAÑA

per optar al títol de Doctor en Medicina

*Treball realitzat sota la direcció del **Dr. Juan José García García** i la **Dra. Carmen Muñoz-Almagro**, a la Unitat de Malalties Infeccioses Pediàtriques, Servei de Pediatria, i el Departament de Microbiologia Molecular de l'Hospital Sant Joan de Déu (Universitat de Barcelona).*

Línia de recerca:

Fisiopatologia malalties fetals i pediàtriques (Departament d'Obstetrícia-Ginecologia, Pediatria, Radiologia i Anatomia). Facultat de Medicina. Universitat de Barcelona.

Barcelona, 5 de juliol de 2012

*Departament d'Obstetrícia-Ginecologia, Pediatria, Radiologia i
Anatomia. Facultat de Medicina.*

Universitat de Barcelona

Treball realitzat a l'Hospital Sant Joan de Déu (Esplugues de
Llobregat, Barcelona)

El doctorand

Cristian Launes Montaña

Vist-i-plau dels directors

Dr Juan José García García Dra Carmen Muñoz-Almagro

INDEX

1. INTRODUCCIÓ.....	1
1.1. Generalitats	3
1.1.1. Aparició del virus de la grip A(H1N1)pdm09 i declaració de l'estat de pandèmia.....	3
1.1.2. El virus de la grip.....	4
1.2. Epidemiologia	8
1.2.1. Generalitats sobre l'epidemiologia	8
1.2.2. Transmissibilitat i període d'incubació.....	11
1.2.3. Grups de risc.....	11
1.3. Fisiopatologia de la malaltia respiratòria per virus de la grip.	13
1.3.1. Càrrega viral i fisiopatologia.	19
1.4. Clínica.....	21
1.5. Diagnòstic.....	22
1.6. Tractament.....	24
1.7. Vacunació	28
1.8. La grip i els nens amb leucèmia limfàtica aguda.....	32
1.8.1. Generalitats sobre la leucèmia limfàtica aguda en els nens.....	32
1.8.2. Complicacions infeccioses en els nens en tractament amb leucèmia	35
2. JUSTIFICACIÓ I HIPÒTESIS	40
3. OBJECTIUS.....	47

4. RESULTATS.....	53
Primer article: 2009 Influenza A H1N1 infections: delays in starting treatment with oseltamivir were associated with a more severe disease .	58
Resum del primer article	65
Segon article: Pandemic influenza A (2009 H1N1) in children with acute lymphoblastic leukaemia	70
Resum del segon article	78
Tercer article: Viral load at diagnosis and Influenza A H1N1 (2009) disease severity in children.....	81
Resum del tercer article	88
5. ANNEX DE RESULTATS	93
Quart article: 2009 H1N1: Risk-factors for hospitalization in a matched case-control study	98
Resum del quart article	106
Cinquè article: Viral coinfection in children less than 5 year-old with invasive pneumococcal disease	110
Resum del cinquè article.....	126
6. DISCUSSIÓ	129
7. CONCLUSIONS.....	144
8. BIBLIOGRAFIA.....	149
9. ABREVIACIONS	175

INTRODUCCIÓ

1. INTRODUCCIÓ

1.1. Generalitats

1.1.1 Aparició del virus de la grip A(H1N1)pdm09 i declaració de l'estat de pandèmia

El 21 d'abril de 2009, els Centres per al Control i Prevenció de Malalties (CDC) d'Estats Units van fer públics dos casos (originalment identificats pel Departament de Defensa americà) de malaltia respiratòria amb febre en nens, al sud de Califòrnia, causats per una infecció per un nou virus de la grip no identificat fins aleshores, que passà a anomenar-se virus de la grip A(H1N1)pdm09¹. El dos virus aïllats eren genèticament molt similars, resistents a l'amantadina i rimantadina, i contenien segments de material genètic de virus de la grip porcins ja identificats i circulants des de 1999 a Amèrica, gens de virus porcins identificats a Euroàsia i gens de virus de la grip aviària². Cap dels nens infectats havia estat exposat a animals susceptibles ni havien estat en contacte un amb l'altre, això feia pensar que el virus era capaç de transmetre's d'humà a humà. Diversos dies després, els CDC van notificar que durant el març i abril de 2009 havia aparegut un clúster de 47 casos de pneumònia greu ràpidament progressiva en individus joves (no precisen edat) a ciutat de Mèxic i altres ciutats mexicanes, amb 12 èxits. En 4 d'aquests èxits s'havia confirmat la infecció pel nou virus^{3,4}.

Degut a aquesta alarma, es van implementar programes de vigilància epidemiològica estatals a diversos països, amb la coordinació de la Organització Mundial de la Salut (OMS). L'11 de juny de 2009, s'havien confirmat 30.000 casos en 74 països diferents, fent que es passés a la fase 6 de l'estat de pandèmia per el nou virus, seguint el protocol del *Global Influenza Programme*⁵. **Taula 1.**

Fase 1	No s'identifica cap humà d'infecció per un virus de la grip animal o recombinant.
Fase 2	S'identifica algun cas humà d'infecció per un virus de la grip animal o recombinant. Perill específic potencial de pandèmia.
Fase 3	S'identifica algun clúster de casos humans infectats per un virus de la grip animal o recombinant. No s'identifiquen casos infectats transmesos d'humà a humà.
Fase 4	S'identifica algun clúster de casos humans infectats per un virus de la grip animal o recombinant amb transmissió confirmada d'humà a humà suficient com per produir petits brots de casos.
Fase 5	El virus, transmissible entre humans, s'identifica en 2 països diferents d'una mateixa regió de la OMS.
Fase 6	El virus, transmissible entre humans, s'identifica en països de diferents regions de la OMS.

Taula 1 - Fases de la pandèmia pel virus de la grip. Global Influenza Programme ⁵.

1.1.2. El virus de la grip

El virus de la grip pertany a la família dels Orthomyxovírids. Hi ha cinc gèneres d'Orthomyxovírids: A, B, C, els Thogotovirus i l'Isavirus. El reservori dels virus del gènere A són l'home, mamífers (porc i cavalls) i aus domèstiques i salvatges; mentrestant pel gènere B és principalment humà i el C, animal (porc), tot i que també pot causar malaltia lleu en nens. Els Thogotovirus i els Isavirus només causen infecció en animals.

Els gèneres A, B i C són molt semblants en l'estructura general. Es componen d'un embolcall, que conté dos tipus de glicoproteïnes, i un nucli central. El nucli central conté el genoma d'àcid ribonucleic (ARN) del virus, així com altres proteïnes víriques que empaqueten i protegeixen l'ARN. El seu

genoma, al contrari que molts altres virus, no el conforma una única peça d'àcid nucleic; sinó que, conté set o vuit peces d'ARN de sentit negatiu, i cada peça d'ARN conté un o dos gens.

L'hemaglutinina (HA) i la neuraminidasa (NA) són les dues grans glicoproteïnes de l'exterior. L'HA és una lectina que mitjança la unió del virus a les cèl·lules diana i l'entrada del genoma víric a la cèl·lula, mentre que la NA té un paper en l'alliberament de la descendència vírica de les cèl·lules infectades. Aquestes proteïnes són l'objectiu dels medicaments antivírics. A més a més, hi ha diferents HA i NA que es comporten desencadenant respostes antigèniques diferents. La immunitat enfront dels virus és, doncs, subtipus específica. Els virus del gènere A es classifiquen en subtipus segons la resposta antigènica a l'HA i la NA. Aquests tipus d'HA i NA són la base de la distinció numèrica "H" i "N" en, per exemple, "H1N1".

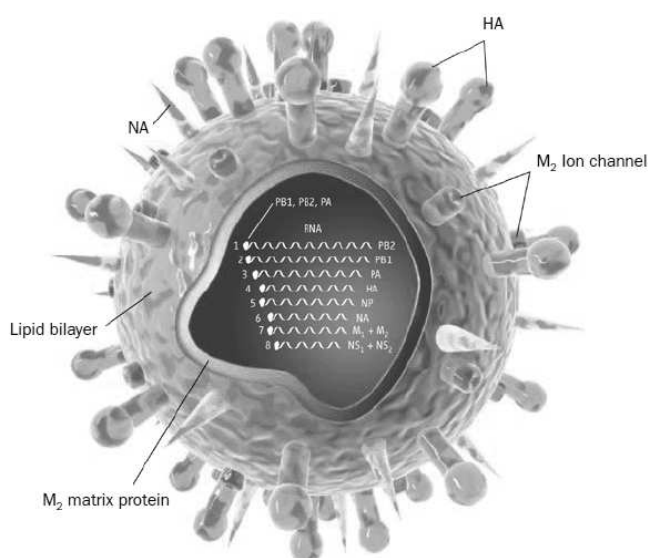


Figura 1. Estructura del virus de la grip. HA = hemaglutinina; M = matriu; N = neuraminidasa; NP = nucleoproteïna; NS = no-structural; PA = polimerasa àcida; PB = polimerasa bàsica. Il·lustració extreta de la revista Science ⁶

Per deriva genètica en la replicació viral (s'estima que la polimerasa del virus erra una de cada 10.000 bases replicades ⁷) apareixen canvis antigènics

menors tant a HA com a NA anomenats *Drifts*⁸, que s'associen a epidèmies estacionals interanuals i una menor efectivitat de les vacunes. Les vacunes es preparen comptant amb els tres subtipus circulants més habituals de l'epidèmia durant l'any anterior en curs. Quan apareix un nou virus per recombinació de segments genètics de diferents reservoris (el que es coneix com a canvis antigènics majors ó *Shifts*), és quan hi ha un risc més alt de pandèmia, donada l'absoluta manca a la població d'immunitat. El fet de que el genoma del virus de la grip sigui segmentat fa que siguin possibles aquestes recombinacions entre virus de diferents orígens que infectarien una mateixa cèl·lula generant aquests canvis majors o *Shifts*⁹.

Es coneixen 16 subtipus H i 9 subtipus N, però en els que infecten humans més habitualment són els subtipus H1, H2 i H3 i els subtipus N1, N2 i N8. Els canvis majors o *Shifts* han estat responsables de les pandèmies de 1918 (grip espanyola, 100 milions de morts arreu del món), 1957 (grip asiàtica, 2 milions de morts), 1968 (grip de Hong Kong, 1 milió de morts).

Any	Subtipus pandèmic
1889	H3N8
1918	H1N1
1957	H2N2
1968	H3N2
1977	H1N1
2009	H1N1 (2009)

Taula 2 - Subtipus pandèmics de virus de la grip

Evolutivament, el segments genètics N1 i el que codifica la matriu del virus de la grip *A(H1N1)pdm09* deriven d'un virus porcí H1N1 d'Euroàsia descendent de l'H1N1 aviari que creuà la barrera entre espècies causant la

pandèmia de 1918. Els altres 6 segments de genoma són fruit de la recombinació entre un H1N1 porcí circulant, un H1N1 aviari circulant, i l' H3N2 humà circulant. Figura 2.

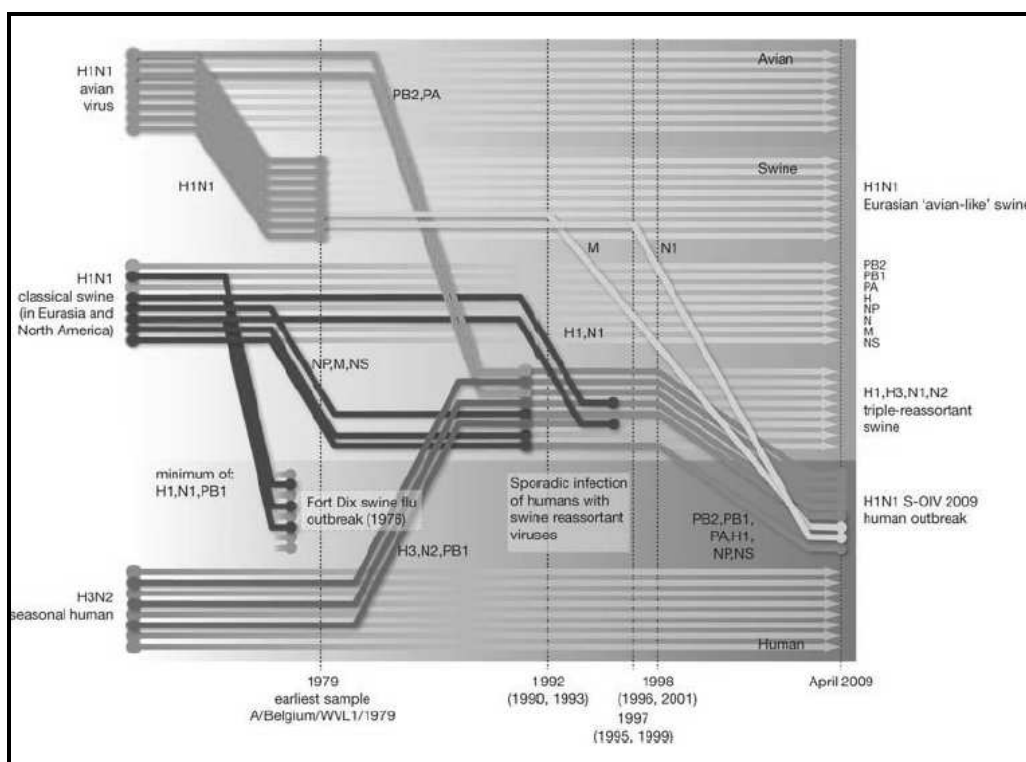


Figura 2. Origen del virus. Il·lustració extreta de la revista Nature ¹⁰

La nomenclatura dels virus de la grip identifica el gènere de virus (A, B, o C), l'àrea geogràfica on s'identificaren els primers casos, el nombre d'identificació de la soca en el laboratori d'origen, l'any d'aïllament i la fórmula dels antigens de superfície. Per tant, la nomenclatura completa del virus pandèmic de 2009 és *Influenza A/California/04/2009 (H1N1)*.

Respecte a la nomenclatura abreviada, hi va haver moltes tendències que podrien portar a la confusió inicialment. Els CDC americans l'anomenaren "swine influença A (H1N1)" quan en feren la primera descripció. Seguint aquesta tendència també s'anomenà H1N1 S-OIV (swine-origin influenza virus). Però aquestes nomenclatures es consideraren imprecises (ja que el material genètic no provenia només d'estirps porcines) i també comptà a

l'oposició de la indústria alimentària. Per aquest motiu els mateixos CDC passaren a anomenar-la "novel influenza A (H1N1)" tot i que, de forma encara més abreujada, també s'utilitza 2009 H1N1. La OMS simplement es referí inicialment com a "influenza A(H1N1)", sense fer cap referència a la novetat que suposava el nou virus respecte a l'H1N1 ja circulant ¹¹. Finalment als texts publicats darrerament per la OMS s'afegí l'any en que aparegué la pandèmia, quedant "pandemic (H1N1) 2009". Nosaltres adoptarem la nomenclatura estandaritzada per la OMS el 26 de setembre de 2011: grip "A(H1N1)pdm09" ¹².

1.2. Epidemiologia

1.2.1 Generalitats sobre l'epidemiologia

Com s'intueix per la diversitat dels reservoris i la facilitat per la deriva genètica i la recombinació de segments genètics entre subtipus, l'epidemiologia dels virus de la grip és complexa. Potencialment qualsevol dels 16 subtipus d'HA i els 9 de NA pot causar infecció en humans, tot i que els subtipus H1, H2, H3 i N1, N2 i N8 són els més implicats.

Com en altres virus respiratoris, es poden identificar diferents èpoques epidèmiques per als brots anuals interpandèmics de l'hemisferi Sud i Nord, que solen tenir una durada d'entre 4 a 6 setmanes per any i apareixen durant l'estació d'hivern respectiva de cada hemisferi ¹³. Una peculiaritat en l'epidemiologia dels virus de la grip és que al sud-est asiàtic és on es solen identificar amb major freqüència els nous subtipus ¹⁴, fet que s'ha atribuït a la densitat de població, la convivència amb els animals reservoris i el fet de que en els països del tròpic no es respecta l'estacionalitat pròpia dels hemisferis i la transmissió del virus es manté al llarg de gairebé tot l'any. En canvi, els primers casos de grip A(H1N1)pdm09 s'identificaren a centre-Amèrica.

Subtipus de virus circulants inter pandèmics (1977-2009)
A H1N1 (1977)
A H3N2 (1968)
Subtipus B

Taula 3 - Subtipus de virus inter pandèmics

La gravetat i la taxa d'atac de les epidèmies estacionals depèn de les variacions menors antigèniques que es puguin produir entre les temporades inter pandèmiques així com de la cocirculació amb altres virus o bacteries. La malaltia greu, però, sol aparèixer en gent gran i individus amb alguna malaltia cardiològica o pulmonar crònica ¹⁵. Cal remarcar també que en la població pediàtrica cada subtipus o variació menor que apareix suposa un virus gripal "nou", donada la manca d'anticossos preexistents. Per tant, la població pediàtrica *per se* també és un grup de risc, i l'impacte de l'epidèmia en aquesta edat vindrà determinat per la immunitat poblacional al "nou" virus, per tant de la protecció inversa que ofereix la immunitat dels adults als nens. En determinats entorns, entre un 30-50% de la població pediàtrica va fer seroconversió després de la temporada pandèmica de grip *A(H1N1)pdm09* ^{16, 17}, mentrestant les taxes de seroconversió per a la població general foren d'un 10% ¹⁸. A diferència d'altres *Shifts* de pandèmies anteriors, el nou virus de la grip *A(H1N1)pdm09* no derivava d'un subtipus circulant amb reservori humà. Com hem comentat, no provenia de l'H1N1 en circulació des del 1977, i la major part d'individus nascuts abans del 1956 no varen patir la malaltia. Aquest fet es creu degut al contacte amb soques d'H1N1 anteriors i que, malgrat no es tractés exactament del mateix virus, hi ha certa immunitat subtipus-específica. Això va marcar un altre tret propi en l'epidemiologia del nou virus: la població més afectada en aquesta pandèmia va ser la d'individus joves ¹⁹. En relació amb aquesta manca de protecció creuada amb l'H1N1 circulant, també es va demostrar, en població menor de 18 anys, que el fet de vacunar-se per als virus circulants estacionals (entre els que s'inclouïa l'H1N1 circulant), no oferia protecció enfront al virus de la grip *A(H1N1)pdm09* ²⁰.

Així doncs, i ja concretant sobre aspectes del virus de la grip *A(H1N1)pdm09*, durant l'onada pandèmica de l'hivern de 2009, milers de nens a Catalunya van resultar infectats per grip *A(H1N1)pdm09*. A la nostra regió, la incidència de la infecció per grip pandèmica va començar a augmentar la setmana 41 de 2009 per als nens d'entre cinc i catorze anys d'edat. La major taxa d'incidència per a aquest grup d'edat es va assolir durant el període comprès entre les setmanes 43 i 46 (1.200 infeccions per cada 100.000 habitants), i la incidència ja era mínima durant la setmana 49. Aquestes taxes en població pediàtrica eren més de 4 cops superiors a les dels adults. **Figura 3**

21 .

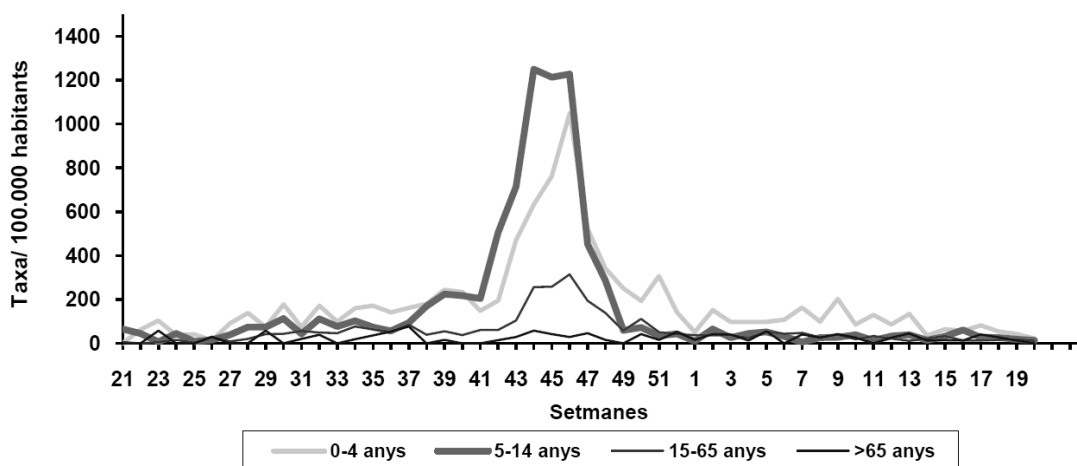


Figura 3. Taxa d'incidència de síndrome gripal a Catalunya. Figura extreta del butlletí del PIDIRAC ²¹

La taxa d'hospitalització per grups d'edat també va ser sensiblement superior en nens. **Taula 4.** De forma similar al que ocorregué a arreu del món

22 .

Grup d'edat (Anys)	Població	Pacients greus	Taxa per 100.000 habitants
0-4	418.271	84	20,1
5-14	715.308	80	11,2
15-44	3.345.794	301	9,0
45-64	1.839.021	229	12,5
>64	1.233.465	78	6,3
TOTAL	7.551.859	772	10,2

Taula 4. Nombre de pacients greus hospitalitzats per grup etari a Catalunya a 25/VI/2010 ²¹

1.2.2 Transmissibilitat i període d'incubació

La transmissió dels virus de la grip *A(H1N1)pdm09* és principalment aèria, mitjançant gotes²³. Però s'ha detectat virus en altres mostres, com femtes, que s'han de considerar com a potencialment contagioses²⁴. Cal destacar però que en estudis d'altres virus gripals també s'ha confirmat possible transmissió per microgotetes exhalades durant la respiració normal²⁵.

El període d'incubació de la malaltia s'estima d'entre 1 a 7 dies²⁶. En el 80% de la població infectada es detecten partícules virals als 5 dies de clínica; al 40% als 7 dies i en un 10% als 10 dies^{27, 28, 29}. En nens i joves, la replicació viral es podria perllongar 10 o més dies, i durant setmanes en el cas d'immunosuprimits³⁰.

1.2.3 Grups de risc

Els CDC i la OMS, extrapolaren els factors de risc per a desenvolupar una malaltia greu per grip *A(H1N1)pdm09* dels grups de risc de la grip estacional³¹.
Taula 5.

- Lactants i nens, especialment els menors de 2 anys
- Dones embarassades.
- Individus amb malaltia pulmonar crònica
- Individus amb malaltia malalties cardíques cròniques (insuficiència cardíaca i cardiopaties cianosants, especialment)
- Individus amb malalties metabòliques
- Individus amb insuficiència renal o hepàtica, malalties neurològiques (neuromusculars, neurocognitives i epilèpsies), hemoglobinopaties, amb immunosupressió primària o secundària a fàrmacs o malalties adquirides.
- Nens en tractament amb àcid acetilsalílic
- Persones majors de 65 anys.

Taula 5 – Factors de risc proposats per la OMS a l'inici de la pandèmia³¹

A les primeres descripcions de la malaltia, l'embaràs, l'obesitat i les malalties metabòliques (diabetis, principalment) eren les patologies de base que suposaven un risc més alt per a desenvolupar una malaltia greu per grip *A(H1N1)pdm09* en població adulta^{32, 33, 34, 35, 36}, mentre que les malalties cròniques neurològiques, pulmonars i les cardiopaties congènites semblaven ser les més importants per al pacient pediàtric^{37, 38, 39, 40, 41, 42}. De totes maneres, s'observava una variabilitat en la expressió clínica i, sobretot, una diferent expressió de malaltia pulmonar pel virus de la grip *A(H1N1)pdm09*, amb casos greus en adults i nens sans en edat escolar que encara no ha estat explicada^{33, 34, 43}.

Pel que fa a una patologia de base de la qual el centre Hospital Sant Joan de Déu n'és centre de referència a l'estat, com la leucèmia limfàtica aguda, fins al moment d'iniciar-se el nostre estudi, no se n'havia fet cap descripció ni s'havia descrit quins factors poden determinar una pitjor evolució clínica en aquests pacients. Els nens amb leucèmia limfoblàstica aguda (LLA) constitueixen un grup important entre els pacients pediàtrics

immunocompromesos, població que es proposà inicialment com una de les de més risc per a desenvolupar una malalta greu per grip *A(H1N1)pdm09*. La seva immunosupressió és primària a la pròpia malaltia en si i secundària a la quimioteràpia que reben, que té una durada d'uns dos anys per a la major part dels pacients. Solament una minoria requereixen transplantament de precursors hematopoètics, en els qui la immunosupressió és encara més important.

1.3. Fisiopatologia de la malaltia respiratòria per virus de la grip.

En la fisiopatologia dels virus de la grip es postula que hi participen dos components: el dany ocasionat pel propi virus i, per una altra banda, l'ocasionat per la resposta immunitària/inflamatòria ⁴⁴.

Els virus de la grip s'uneixen a receptors de l'epiteli de les vies respiratòries. Aquests receptors exposen una molècula de galactosa i una d'àcid siàlic unides per un pont α 2,6 (SA α 2,6Gal). Els virus aviaris, ho fan preferencialment en uns altres receptors compostos per també galactosa i àcid siàlic, però en aquest cas, units per un pont α 2,3 (SA α 2,3Gal), que es troben a l'epiteli intestinal i també respiratori de les aus. L'epiteli de la via respiratòria dels porcins, però, expressa els dos tipus de receptors, permetent doncs la coinfecció d'una mateixa cèl·lula per virus de diferents subtipus ⁴⁵. Un cop el virus infecta l'epiteli, interfereix amb la síntesi proteica i indueix l'apoptosi de la cèl·lula ^{46, 47, 48}. Abans de la mort cel·lular, s'alliberen nous virions que infecten les cèl·lules de l'epiteli adjacent. Això explica la inflamació bronquial i la necrosi, així com les hemorràgies alveolars i l'edema i la hipersecreció reactiva que s'observa anatomopatològicament ^{49, 50}.

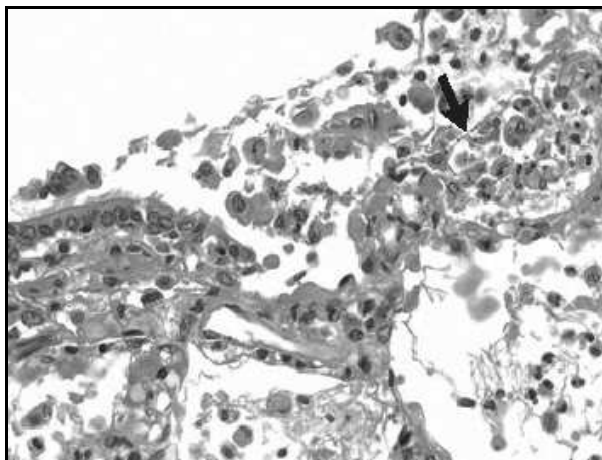


Figura 4. Necrosi de l'epiteli alveolar. Figura extreta de la revista *New England Journal of Medicine* ⁵⁰

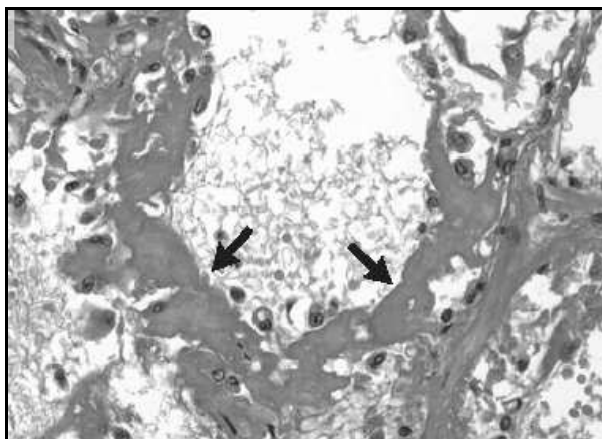


Figura 5. Membrana hialina. Figura extreta de la revista *New England Journal of Medicine* ⁵⁰

El virus de la grip *A(H1N1)pdm09* infecta predominantment els pneumòcits de tipus II ⁵¹. Això li confereix una predilecció especial per la via respiratòria baixa que altres virus estacionals no tenen ^{52, 53}, tot i que no tant marcat com en els casos d'H5N1 aviar ⁵⁴.

La detecció dels virus respiratoris pel sistema immunitari és un element important per al control de la infecció. Cada cop es coneix més informació sobre els receptors que reconeixen components bàsics dels virus respiratoris, desencadenant la resposta immune. Aquests receptors mitjancen la resposta

inflamatòria regulant l'expressió d'interferons de tipus I, sistema que es considera clau en el control de la infecció per diversos virus, i altres citoquines. Com hem esmentat, les primeres cèl·lules que s'infecten són les de l'epiteli respiratori. Un cop aquestes cèl·lules són destruïdes, els macròfags i les cèl·lules dendrítiques que estan a l'epiteli respiratori quedaran també infectades en intentar eliminar els detritus. Les cèl·lules dendrítiques captaran els antigens vírics i els exposaran, mentrestant l'activació dels receptors del sistema immunitari innat permetrà l'expressió de diverses citoquines que potenciaran el reclutament de cèl·lules immunitàries i promouran la resposta T-citotòxica i B, activant en darrera instància la producció d'anticossos ⁵⁵.

Alguns dels receptors de la immunitat innata implicats són extracel·lulars, i altres són intracel·lulars com el Toll-like receptor (TLR) 3, que s'ha relacionat amb la resposta inflammatòria i immune contra els virus de la grip en concret ⁵⁶. S'ha demostrat que ratolins sense capacitat per expressar TLR3 no controlen bé la infecció, fent que les càrregues virals per grip siguin més altes i manifesten una resposta inflammatòria menor ⁵⁷. La producció d'interferó davant una infecció per virus de la grip és menor també en murins que han estat modificats genèticament per a ser incapaços d'expressar TLR7, un altre receptor intracel·lular implicat en el reconeixement de diversos virus RNA ⁵⁸. Altres receptors implicats en la resposta contra els virus de la grip són el RIG-I-like receptor, al citoplasma, i els NOD-like receptors als inflamosomes ^{59, 60, 61}. Els inflamosomes són complexos formats per diverses proteïnes que actuen activant la via de la caspasa, una cadena que acabarà activant diverses prointerleuquines, permetent que s'alliberin a l'exterior de la cèl·lula les formes actives d'aquestes citoquines. Figura 6.

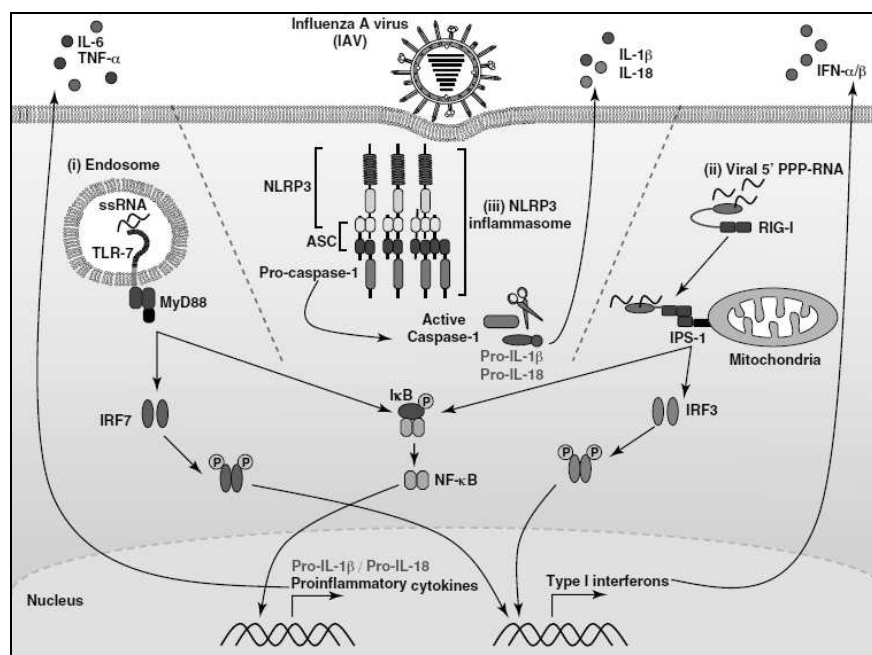


Figura 6 – Sistema de receptors de la immunitat innata implicats en la resposta contra la infecció dels virus de la grip. Figura extreta de la revista *Trends in Immunology*⁵⁵

Els virus utilitzen diversos mecanismes per evadir la resposta immunitària cel·lular. Els virus de la grip expressen la proteïna NS, que evita que el genoma viral sigui detectat⁶². Com hem comentat anteriorment; cada virus de la grip conté segments d'RNA que poden provenir de diferents línies de virus de la grip, que els permet expressar diferents proteïnes més o menys efectives en el control de la resposta immune i inflammatòria. Per tant, la virulència entre virus de la grip diferents és diferent, independentment de que existeixi immunitat adaptativa poblacional o no.

Pel que fa al nou virus de la grip, diversos patrons d'expressió genètica en humans d'aquests i altres receptors, i diversos patrons d'expressió de citocines s'han relacionat recentment amb els casos greus de grip *A(H1N1)pdm09*^{63, 64}. Sembla que una resposta inflammatòria exagerada quedaria vinculada als casos greus, sense determinar si aquesta exagerada activació la mitjança principalment el dany directe ocasionat pel virus, és idiosincràtica de cada individu com a resposta a la infecció o hi ha altres factors epigenètics, com infeccions prèvies o coinfeccions que modifiquen aquesta

resposta. La informació però, encara és escassa i no existeix cap estudi que avaluï al paper d'aquesta resposta en el pacient pediàtric greu. Tampoc no està del tot clar que els pacients amb resposta inflamatòria menor estiguin més protegits de patir malaltia greu, ja que alguns estudis ho han posat en dubte apuntant, precisament, en la direcció contrària ^{65, 66}.

Un altre element que juga un paper important en la fisiopatologia de la malaltia pels virus de la grip és la coinfecció ⁶⁷. La gravetat de la malaltia en les pandèmies anteriors s'havia atribuït clàssicament a una sobreinfecció bacteriana ^{68, 69}, més que a la virulència dels propis virus ⁴⁷. Però, segons les primeres publicacions, en molts dels individus infectats per grip *A(H1N1)pdm09*, no calia presentar coinfecció bacteriana per a presentar malaltia greu ^{34, 38, 70, 71}. En el sentit contrari, també es va anant publicant bibliografia que trobava colonització o coinfecció bacteriana, principalment per *Streptococcus pneumoniae*, en un alt percentatge de pacients adults que requerien ingrés o que varen ser èxits (entre un 25% a 60% en aquest darrer cas) ^{72, 73, 74}. Posteriorment a la pandèmia, la relació entre la coinfecció pneumocòccica i el nou virus de la grip fou també motiu d'anàlisi degut a un increment de casos d'empíemes en nens associat a la pandèmia ^{75, 76}, tot i que no s'arribà a estudiar a fons si tots aquests pacients havien estat infectats o no realment pel nou virus.

En relació a la coinfecció bacteriana en el cas del nou virus de la grip, no existia una clara pauta d'actuació en referència a quan tractar una possible sobreinfecció bacteriana en aquests nens, quedant a criteri de l'equip mèdic i fer la cobertura segons l'epidemiologia local de la pneumònia, iniciar tractament antibiòtic o no. Tan sols trobarem una breu editorial al New England Journal of Medicine proposant una pauta d'actuació en quant a cobertura antibiòtica, que creiem únicament aplicable a l'entorn on es situaven la bibliografia en la que es basava, tota provinent d'Estats Units, on la pneumònia estafilocòccica és molt més freqüent que al nostre medi ⁷⁷.

Hi ha diversos factors proposats a la literatura que explicarien per què els malalts infectats pels virus de la grip podrien tenir més facilitat per a la coinfecció bacteriana. Aquests factors actuarien alterant la barrera física (el dany epitelial, la hiperproducció de secrecions espesses, l'exposició de receptors cel·lulars que facilitarien l'entrada bacteriana,...) o la barrera immunològica (inhibició de la resposta dels neutròfils, expressió d'interleuquines que modularien la resposta enfront la infecció bacteriana...) ⁴⁴.

Els estudis que valoraren la coinfecció amb altres virus respiratoris i quina podria ser la seva repercussió en la gravetat de la clínica eren escassos a l'inici de la pandèmia. Alguns estudis relacionaren la coinfecció amb el Virus Respiratori Sincitial (VRS) com un dels factors associats a necessitat d'ingrés ⁷². Es descrigueren també casos esporàdics de coinfecció amb coronavirus i rinovirus, sense determinar-ne el seu paper en la gravetat de la malaltia respiratòria. *Libster et al* publicaren un estudi descriptiu de 251 nens ingressats amb infecció per grip *A(H1N1)pdm09* on s'avaluava la coinfecció viral amb VRS, adenovirus i parainfluenza, per immunofluorescència directa ³⁸. La coinfecció amb VRS arribava fins al 20% i es descrigueren alguns casos de coinfecció amb parainfluenza i/o adenovirus. L'estudi conclouïa que no hi havia diferències en quant a la presentació clínica, sense entrar en detall en trets epidemiològics, analítics o radiològics que podrien ajudar a sospitar els casos de coinfecció. Sí que s'observaren diferències entre grups respecte a l'edat (menor en el grup de nens coinfectats) i el fet de que cap dels nens amb coinfecció viral presentava coinfecció bacteriana (cercada només amb hemocultiu) mentrestant un 8% dels no coinfectats sí. No existia, doncs, ni encara ara, molta informació a la literatura internacional en referència al paper de la coinfecció viral en la malaltia per grip *A(H1N1)pdm09* i encara menys en l'àmbit pediàtric.

L'aclariment de moc per l'epiteli mucociliar i altres factors físics també poden tenir un paper important en el control de la infecció i en la neteja de les

partícules virals ⁷⁸. També altres factors purament físics, com la poca reserva energètica, el menor volum funcional pulmonar i la via aèria de menor calibre s'han proposat com a factors que fan més probable i més greu la infecció de la via respiratòria baixa en els nens, respecte als adults ⁴⁴.

L'altre element, ja introduït, en la fisiopatologia de la malaltia pels virus de grip és la resposta humoral, que com ja hem dit, generalment és específica per a subtipus. Malgrat això, petits canvis o glicosilacions en la HA, poden fer evadir el virus dels anticossos, mentrestant manté inalterada la seva infectivitat, com s'ha descrit en l'H3N2 circulant ⁷⁹. En el cas del virus de la grip *A(H1N1)pdm09*, durant la pandèmia no es varen descriure canvis d'aquest tipus però cal destacar que, posteriorment, es notificà la detecció de variants del nou virus de la grip *A(H1N1)pdm09*, amb mutacions en el lloc d'unió del receptor de l'HA. Una substitució Asp222Gly (D222G) li conferiria un major tropisme per les cèl·lules respiratòries de la via respiratòria distal o baixa ⁸⁰.

1.3.1. Càrrega viral i fisiopatologia.

Independentment dels factors proposats que poden condicionar una diferent expressió clínica i gravetat en cada pacient infectat (la coinfecció bacteriana i/o viral, la diferent resposta inflamatòria desencadenada, l'aparició de noves variants del virus amb major tropisme pel tracte respiratori inferior o amb major capacitat d'evasió de la resposta cel·lular, la comorbiditat,...), la càrrega viral (que es pot determinar amb la mateixa tècnica de biologia molecular que s'utilitza per al diagnòstic sense afegir pràcticament cap cost econòmic) podria proporcionar informació important sobre la interacció entre l'agent infeccios i l'hoste. La informació sobre la correlació entre la càrrega viral i les característiques epidemiològiques i la gravetat de la malaltia en pacients pediàtrics és pràcticament nul·la. La major part dels pocs estudis que existeixen en virus de la grip estacional majoritàriament, estan dirigits a avaluar el període d'infectivitat o l'evolució de la càrrega amb el tractament antiviral, i molt

superficialment es descriu la relació de la càrrega viral amb la clínica. Molts d'aquests estudis fets amb virus estacionals s'han fet amb voluntaris i no solen incloure malalts greus o ho fan en un nombre molt baix. La càrrega viral en la grip estacional i pandèmica en pacients adults arriba el seu pic entre 0 i 48 hores després de l'aparició de símptomes respiratoris ^{81, 82, 83}. En determinacions seriades, la reducció dels signes i símptomes sistèmics, principalment la febre, es correlacionen estretament amb la disminució de la càrrega viral ^{82, 83}. Pel que fa a grip *A(H1N1)pdm09*, en les primeres sèries publicades en pacients adults o sèries que inclogueren nens, aquests darrers amb poca mostra de pacients pediàtrics que requeriren ingrés, no es trobaren diferències en la càrrega viral entre els pacients greus i no greus ^{81, 82}. *Duschamp et al* van publicar una sèrie de 209 casos de diverses edats en la que no pogueren arribar a cap conclusió en aquesta direcció donat que l'estudi estava dissenyat per avaluar la validesa d'una tècnica de quantificació de genoma viral i el tamany de la mostra de pacients ingressats era molt baixa ⁸¹. Un estudi que sí avaluà directament aquesta qüestió és el de *To et al* ⁸³. Es tracta d'una sèrie d'adults ingressats (20 casos greus i 37 no greus) en la que no trobaren diferències en la càrrega viral entre el grup de pacients greus i no greus. Aquest estudi, però, no té en consideració altres factors que s'associen tradicionalment (en estudis amb grip estacional) a càrregues virals diferents, com grups etaris diferents o comorbiditat (en individus joves i amb comorbiditat la càrrega viral dels virus estacionals sol ser més alta). Ja en el període post-pandèmic, *Chung-Chen Li et al* publicaren un estudi amb pacients de varies edats en que correlacionaren càrregues virals altes de grip *A(H1N1)pdm09* amb major expressió de malaltia sistèmica (febre i pneumònia) ⁸⁴. D'altra banda, en adults amb malaltia greu per grip *A(H1N1)pdm09* i altres virus de la grip s'ha observat en determinacions seriades un *clearance* de càrrega viral més baix que en els pacients amb malaltia més lleu ^{83, 85}. També s'ha observat un *clearance* més baix de càrrega viral en els nens, sense definir-se si aquesta troballa *per se* tradueix una major gravetat de la infecció ⁸⁴. També s'han de tenir en compte algunes consideracions que publicaren *Bermejo-Martin et al* en adults: una resposta inflamatòria exagerada podria implicar una negativització o reducció de la càrrega viral en els pacients greus ⁶³.

La informació és doncs, heterogènia, i escassa en els cas dels nens, principal població afectada pel virus, especialment en aquells amb malaltia moderada o greu que requerí ingress hospitalari. Creiem que la càrrega viral no s'ha definit encara com a un dels possibles factors associats a la malaltia greu per grip *A(H1N1)pdm09*.

1.4. Clínica

Les manifestacions clíniques clàssiques de la infecció pels virus de la grip circulants abans de l'*A(H1N1)pdm09* són la febre, el mal de cap i les miàlgies, que acompanyen a les manifestacions respiratòries, com la tos, odinofàgia i rinitis⁸⁶. En els nens, la febre, moltes vegades sense focus, sol ser la principal manifestació. La bronquiolitis i l'exacerbació de l'asma són els principals motius d'ingrés degut als virus de la grip^{87, 88}. La inespecificitat de la clínica, comú amb la de molts altres virus respiratoris i la manca de sistemàtica a la hora de fer alguna prova específica i sensible de biologia molecular per detectar virus respiratoris, feia que realment molts casos de malaltia pels virus de la grip no fossin identificats com a tal, ni tan sols en pacients greus. Molt menys encara en els pacients amb manifestacions extrapulmonars⁸⁷.

La complicació principal en nens amb infecció pels virus de la grip circulants abans de l'*A(H1N1)pdm09* és la sobreinfecció bacteriana (otitis mitjana principalment)⁸⁶. Les manifestacions extrapulmonars descrites són musculars (miositis)⁸⁹ i, molt rarament, neurològiques (meningitis, atàxia aguda, mielitis transversa, síndrome de Guillain-Barré, encefalitis, malalties desmielinitzants agudes, convulsions febrils, i alteracions del nivell de consciència o encefalopaties agudes) i, anecdòticament, cardíques (perimiocarditis)^{90, 91}.

Respecte al virus A H1N1 (2009), des del moment en que es declarà la fase 6 de pandèmia, al juny de 2009, i fins al moment en que iniciarem l'estudi, no estava molt descrit com aquesta malaltia podia afectar al pacient pediàtric ni les característiques de la malaltia greu. La OMS, inicialment, definí que complien criteris de *malaltia compatible amb grip (influenza-like illness (ILI))* aquells que presentaren febre $\geq 38^{\circ} \text{C}$ i signes d'infecció respiratòria aguda o odinofàgia⁹².

Segons les primeres descripcions que anaren publicant-se, la major part de casos infantils amb infecció per grip *A(H1N1)pdm09* presentaven una malaltia lleu, amb els mateixos símptomes que la grip estacional (febre sense focus o una història de febre i altres símptomes com tos, odinofàgia, augment de secrecions respiratòries, dolor articular i/o muscular, mal de cap, dolor abdominal, vòmits i/o diarrea). De totes maneres, algunes sèries publicades durant l'estiu de 2009 a la literatura internacional començaren a mostrar casos on la presentació era atípica. També es varen descriure els primers casos de malaltia greu en pacients prèviament sans, així com manifestacions extrapulmonars (neurològiques, principalment i, posteriorment, es descrigueren renals i cardíques)^{28, 29, 37, 38, 42, 70, 93, 94, 95}. Tal i com hem comentat al desenvolupar la fisiopatologia de la malaltia, la variabilitat en l'expressió clínica de la infecció per grip *A(H1N1)pdm09* en el pacient pediàtric encara no ha estat explicada.

1.5. Diagnòstic

El diagnòstic de malaltia pel virus de la grip, en base a únicament criteris clínics, és difícil, ja que la clínica és compartida amb la d'altres virus respiratoris, com el Virus Respiratori Sincitial i el Virus Parainfluenza^{87, 96, 97}. Els criteris de malaltia compatible amb grip (*influenza-like illness*) dels *Centers for Diseases Control and Prevention* d'Estats Units i de la Organització Mundial de la Salut, són febre amb tos i/o odinofàgia. Cal remarcar que els nens petits

és més improbable que puguin manifestar símptomes subjectius com miàlgies o odinofàgia. A més a més, en estudis fets amb nens d'entre 5 a 12 anys el valor predictiu positiu de la febre i tos per al diagnòstic de grip és del 71% a 83%, comparat amb el 64% dels nens menors de 5 anys ⁹⁸. Així doncs, és freqüent que el nombre de casos, per clínica, s'infraestimi ⁸⁷. Aquesta ha estat una limitació important a l'hora de comparar la virulència del nou virus de la grip en relació als circulants.

En quant a proves complementàries, era força estès l'ús dels test de diagnòstic ràpid, la major part d'ells basats en immunocromatografia. La sensibilitat d'aquesta tècnica depèn molt de l'edat del pacient, la durada dels símptomes en el moment d'agafar la mostra, i el tipus de mostra. Per als virus circulants abans del A H1N1 (2009) tenen una sensibilitat que oscil·la entre el 70% i 90% en nens, i del 20% al 60% en adults. L'especificitat va del 85 al 95% ^{99, 100}. Tan sols es recomanava l'ús en èpoques epidèmiques per minimitzar el risc de falsos positius i caldria confirmar els valors negatius amb tècniques de microbiologia molecular. Ja es postulava abans de l'època pandèmica que les úniques tècniques de diagnòstic vàlides eren el cultiu viral o la detecció de material genètic del virus mitjançant una reacció en cadena de la polimerasa. De totes maneres, cal remarcar que les tècniques de microbiologia molecular tenen una sensibilitat major que el cultiu viral, especialment quan les mostres s'agafen amb més de 5 dies de clínica ⁹⁹. Amb cultiu viral pot haver-hi fins a un 50% de falsos negatius ¹⁰¹. D'aquesta manera la tècnica de referència per al diagnòstic de la infecció per virus de la grip, en l'època pre-pandèmica, ja es considerava que era la detecció de l'RNA del virus mitjançant transcripció reversa seguit d'amplificació del material genètic per reacció en cadena de la polimerasa (RT-PCR).

Inicialment també es va postular que el diagnòstic de la infecció per grip *A(H1N1)pdm09* només es podia fer amb la confirmació microbiològica mitjançant un cultiu viral o la detecció del material genètic del virus amb una RT-PCR. Els tests d'antigen de grip utilitzats fins al moment per als virus

estacionals, basats en la immunofluorescència, mostraren una bona especificitat (85-95%), però una sensibilitat molt variable i, en el millor dels casos, subòptima (entre el 10 i 70%)^{100, 102, 103}. Aquestes dades, que ja es coneixien ben aviat, durant l'inici de la pandèmia, feien que els tests de diagnòstic ràpid no fossin útils com a mètode de selecció per a la detecció dels casos. Així doncs, si bé fer el diagnòstic de forma precoç podia permetre la iniciació immediata del tractament antiviral, durant l'onada pandèmica es recomanà l'inici de tractament de forma empírica en pacients d'alt risc amb simptomatologia compatible³¹, en espera dels resultats de les proves diagnòstiques. La OMS i els CDC publicaren les guies per al processament de les mostres i es varen validar diversos kits de RT-PCR per al diagnòstic¹⁰⁴. Habitualment aquests kits detecten un gen comú als virus de la grip (un gen de proteïna de matriu) i un específic de la HA del nou virus. S'acceptaren com a mostres vàlides per a fer el diagnòstic l'aspirat o frotis d'orofaringe i/o de nasofaringe així com mostres d'aspirat traqueal o rentat broncoalveolar³¹. Diversos laboratoris de microbiologia molecular, entre ells el laboratori de l'Hospital Sant Joan de Déu, centralitzaren el processament de mostres per al diagnòstic dels casos moderats o greus que requerien ingrés, així com les dels pacients amb algun factor de risc dels proposats per la OMS.

La seroconversió també és una forma útil d'avaluar la infecció passada. Les titulacions d'anticossos es fan servir per fer estudis epidemiològics de prevalença, i fins ben avançada la pandèmia no varen estar disponibles⁹⁹.

1.6. Tractament

Per al tractament dels virus de la grip existeixen dos tipus de fàrmacs segons la diana terapèutica: els inhibidors de la neuroaminidasa (NA) i els adamantans.

Els inhibidors de la NA comercialitzats són l'oseltamivir (oral) i el zanamivir (inhalat o nebulitzat) i tenen activitat tant contra els virus de la grip del gènere A com contra els del gènere B. En fase 3 d'assaig clínic a l'inici de la pandèmia, es trobava un altre fàrmac d'aquesta família, el peramivir, que podria utilitzar-se per via endovenosa.

L'Oseltamivir-fosfat és un profàrmac d'administració oral que, després de l'absorció, es metabolitza en oseltamivir carboxilat (OC), el metabòlit clínicament actiu. OC s'uneix al lloc actiu de la NA. En les cèl·lules infectades, els virions acabats de formar són transportats a la membrana cel·lular. Els virions romanen units a la membrana fins que es poden separar de la superfície de la cèl·lula gràcies a l'activitat proteolítica de la NA viral. La inactivació de la NA, doncs, fa que els nous virions no puguin desprendre's de la superfície de les cèl·lules infectades i per tant, es preven la replicació posterior dels virus a les cèl·lules adjacents. El zanamivir actua de forma similar, però la seva biodisponibilitat per via oral és molt baixa (entre l'1 i el 5%), pel que només es pot utilitzar per via inhalada i això fa que es dubti del potencial del fàrmac de cara a controlar una infecció sistèmica greu. El zanamivir només està autoritzat a utilitzar-se en majors de 5 anys com a fàrmac de segona línia ¹⁰⁵. Existeixen estudis en fase II amb una formulació endovenosa del zanamivir que l'Agència Europea del Medicament (EMA) autoritza com a d'ús compassiu.

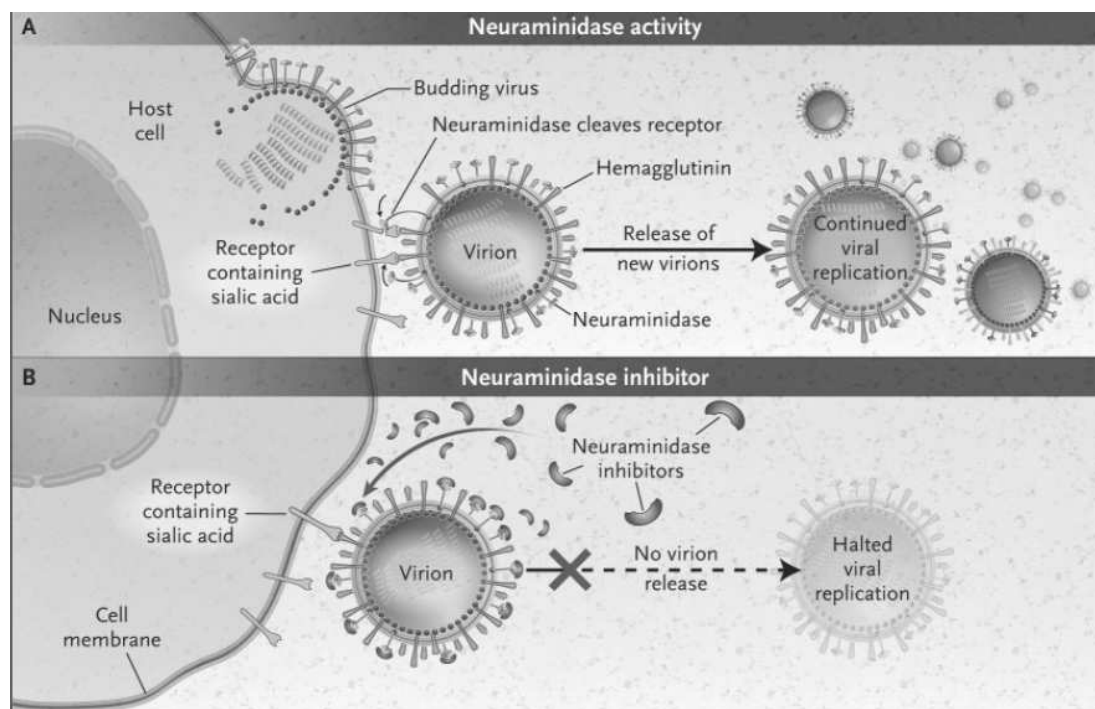


Figura 7. Mecanisme d'acció dels inhibidors de la NA (A, sense tractament; B, amb tractament). Il·lustració extreta de la revista *New England Journal of Medicine* ¹⁰⁶

Els adamantans comercialitzats són l'amantadina i la rimantadina i solament són actius contra els virus del gènere A. El seu mecanisme d'acció és el bloqueig de la proteïna M2, que forma un canal de protons a la membrana del virus imprescindible per a la replicació. La diana, però és codificada per un gen amb facilitat per a la deriva genètica ¹⁰⁷, pel que les resistències són altes, així com el risc de desenvolupar-les durant el tractament. Donat l'alt nombre de resistències ja no es recomanava l'ús a l'època pre-pandèmica ^{108, 109}.

La totalitat dels virus de la grip A(H1N1)pdm09 que s'havien analitzat fins al moment d'iniciar els estudis d'aquest dossier eren sensibles a dos inhibidors de la neuroaminidasa: l'oseltamivir i el zanamivir, i resistents a dos adamantans, amantadina i rimantadina ¹. Posteriorment, es notificà l'aparició d'algunes soques molt minoritàries de virus resistent a oseltamivir, però encara sensible al zanamivir ¹¹⁰. Tots aquests casos presentaven una substitució a la NA (H275Y), ja descrita en alguns virus de la grip circulants anteriorment ¹¹¹. Les soques resistents durant la pandèmia a Espanya foren molt minoritàries ¹¹².

La *Food and Drug Administration (FDA)* a Estats Units aprovà en el pacient pediàtric l'ús, en casos seleccionats del peramivir (en cas de manca de resposta al oseltamivir o zanamivir; o si no podia utilitzar-se la via inhalada o oral). Donat que les dades dels estudis fets amb oseltamivir i els casos de grip estacional suggerien que l'ús del fàrmac era beneficiós, especialment quan s'iniciava dins les primeres 48 hores després de l'aparició de la simptomatologia ^{113, 114}, es recomanà començar tractament precoçment en els nens infectats per grip *A(H1N1)pdm09* i signes clínics i/o radiològics de pneumònia, o bé amb encefalopatia, deshidratació greu, fallada renal, fallada multiorgànica, rabdomiòlisi, miocarditis, xoc, o amb descompensació d'una malaltia crònica subjacent, com asma, insuficiència cardíaca, hepàtica o renal crònica, així com també davant de qualsevol malaltia per grip que requerís hospitalització; sense esperar el resultat dels test de diagnòstic ¹¹⁵.

La pauta de tractament estàndard té una durada de 5 dies segons l'Agència Europea del Medicament (EMA) ¹¹⁶.

Edat	Posologia
< 1 mes	2 mg/kg cada 12 hores
D'1 a 3 mesos	2,5 mg/kg cada 12 hores
De 3 a 12 mesos	3 mg/kg cada 12 hores
Majors d'un any:	< 15 kg: 30 mgr cada 12 hores
	15 a 23 kg: 45 mg cada 12 hores
	23 a 40 kg: 60 mg cada 12 hores
	> 40 kg: 75 mg cada 12 hores

Taula 6 - Posologia de l'oseltamivir segons l'EMA ¹¹⁶

Els CDC recomanaren, però, utilitzar pautes de tractament més llargues en pacients immunosuprimits, ja que s'havia documentat una detecció perllongada del virus en aquest grup, amb el conseqüent possible increment en el risc de resistències al tractament antivíric ³⁰.

Els efectes secundaris de l'oseltamivir en nens són lleus, la major part d'ells molèsties gastrointestinals (vòmits principalment) ¹¹⁷. Els efectes neuropsiquiàtrics descrits a Japó en premsa divulgativa ¹¹⁸ quedaren en entredit donada la farmacocinètica del fàrmac (no travessa la barrera hematoencefàlica) ¹¹⁹ i la manca d'evidència en altres sèries ¹²⁰ que, a més a més, també inclouen lactants.

De forma similar a les directrius dels CDC, ja esmentades, amb el *Pla d'actuació a Catalunya enfront d'una infecció pel nou virus de la grip A(H1N1)* del Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya, es recomanà tractament antivíric, sense esperar a la confirmació microbiològica, en tots els casos que requerissin ingrés i també en aquells pacients amb els factors de risc descrits per a la grip estacional ¹²¹. Aquesta va ser la pauta d'actuació que es seguí al nostre centre.

1.7. Vacunació

Les vacunes disponibles al nostre medi per als virus de la grip es preparen tenint en compte els virus de la grip més prevalents durant la temporada anterior a l'any en curs. La componen virus inactivats (purificats d'HA). La vacuna es pot utilitzar en majors de 6 mesos, tant sans com amb patologia de base. La immunitat que confereixen es correlaciona amb la titulació d'anticossos inhibidors de l'HA després de la vacunació. Nivells alts d'aquests anticossos minven el risc de malaltia ocasionada per virus del mateix subtipus antigènicament similars als inclosos a la vacuna. La major part dels individus sans fan anticossos després de la vacunació, però realment no es coneix el veritable significat de quins títols són protectors, tot i que s'estima que la titulació protectora d'anti-HA oscil·la entre 1:32 - 1:40, ni fins a quin punt un individu vacunat sense tenir una resposta que el faci arribar a una titulació

protectora realment té més risc de desenvolupar malaltia ¹²². La durada de la protecció conferida per la vacuna, es postula d'uns 6 - 8 mesos, tot i que podria ser més llarga en alguns casos ¹²³.

Com hem dit, cada any canvien els antígens que s'inclouen a la vacuna, en relació a la de l'any anterior, segons directrius que marca la OMS. Quan canvien els antígens, els nens menors de 9 anys que són vacunats només amb una dosi i que reben per primer cop una vacuna de la grip no solen arribar a la xifra de títols protectors; en canvi sí ho fan quan reben una sola dosi, però han estat vacunats en alguna temporada anterior ¹²². Una important controvèrsia en pediatria és que en nens sans, una revisió *Cochrane* que avaluà l'eficàcia en la prevenció de malaltia confirmada per virus de la grip i/o compatible indicà que solament un 60% dels vacunats majors de dos anys quedaren protegits gràcies a la vacunació; la vacunació no oferia cap protecció en menors de 2 anys ¹²⁴. De totes maneres, cal remarcar que la revisió no tingué en compte si els virus circulants durant les temporades analitzades de cada estudi inclòs corresponien a les incloses a la vacuna, ni tampoc s'avaluava la prevenció de malaltia confirmada, sinó de tots els casos compatibles ¹²⁵. La vacunació amb virus atenuats podria ser més eficaç, però, abans de la publicació d'aquest dossier, encara no existeixen vacunes d'aquest tipus al nostre medi.

La resposta vacunal dels nens amb malalties de base envers les vacunes de la grip no es coneix massa bé, tot i que probablement, la resposta vacunal és menor que en els nens sense malalties de base ¹²⁶. Aquesta resposta podria ser menor encara en nens amb immunosupressió per quimioteràpics ¹²⁷. En canvi, una població de risc estudiada que sí presenta una bona resposta a la vacunació és la de nens asmàtics ¹²⁸.

En relació als efectes adversos relacionats en nens amb les vacunes de la grip, en un molt baix nombre de casos apareix febre, erupció cutània, reaccions locals i, en entre dubte queda l'associació amb convulsions febrils ¹²².

Fins novembre de 2009 no es va disposar al nostre medi d'una vacuna per al virus de la grip *A(H1N1)pdm09*. Els títols seroprotectors amb les vacunes univalents que es comercialitzaren al llarg de la pandèmia, en nens vacunats amb dues dosis s'aconseguien en el 80 a 90% dels casos ¹²².

L'Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) americana recomanà la vacunació contra el virus de la grip en tots els nens majors de 6 mesos i fins als 18 anys, seguint una pauta de vacunació per la qual els nens que es vacunessin per primer cop de grip estacional abans dels 9 anys d'edat rebrien dues dosis de vacuna. Les recomanacions del *Comité Asesor de Vacunas*, de l'associació espanyola de pediatria (AEP) queden recollides a la següent taula:

Nens majors de 6 mesos i adolescents en les següents situacions o malalties de base (grups de risc):

Malaltia respiratòria crònica (incloent asma i hiperreactivitat bronquial).

Malaltia cardiovascular crònica.

Malaltia metabòlica crònica (diabetis ...).

Malaltia renal o hepàtica crònica.

Malaltia inflamatòria intestinal crònica.

Individus amb immunodepressió o immunodeficiència (congenita o adquirida). Asplènia funcional o anatòmica.

Malalties oncològiques.

Malaltia neuromuscular crònica i encefalopaties moderades i greus.

Malalties hematològiques moderades-greus.

Malnutrició.

Obesitat mòrbida (IMC ≥ 3 desviacions estàndard).

Sd. de Down i altres cromosomopaties greus.

Nens i adolescents (de 6 mesos a 18 anys) en tractament continuat amb àcid acetilsalicílic.

Embaràs (adolescents).

Nens majors de 6 mesos i adolescents sense patologia de base però que són contactes domiciliaris (convivents) de pacients (nens o adults) pertanyents a grups de risc.

Els nens majors de 6 mesos no inclosos en grups de risc poden vacunar-se enfront de la grip si els seus pares ho demanen o el seu pediatre ho considera oportú.

Taula 7. Recomanacions de vacunació antigripal estacional del Comité Asesor de Vacunas de la AEP ¹²⁹

1.8. La grip i els nens amb leucèmia limfàtica aguda

La població de nens immunosuprimits és molt diversa, segons la causa primària o secundària que motivi la immunosupressió. Una de les poblacions més nombrosa i homogènia és la de nens amb leucèmia limfàtica aguda, pel que va esdevenir població d'estudi d'aquest projecte.

1.8.1. Generalitats sobre la leucèmia limfàtica aguda en els nens.

La leucèmia aguda és el càncer més freqüent a l'edat pediàtrica, representant el 30% de les neoplàsies infantils. Té una incidència anual de al voltant de 3 per cada 100.000 nens als països desenvolupats, amb predomini en el sexe masculí i amb un pic d'incidència a l'edat d'1 a 5 anys. La leucèmia limfoblàstica representa al voltant d'un 75% de les leucèmies agudes del nen.

130

Al debut solen presentar simptomatologia inespecífica, com febre, sagnat de mucoses, dolor ossi o limfadenopaties, acompanyant una alteració a l'hemograma (especialment anèmia i/o trombopènia, menys sovint leucocitosi) amb, en la major part dels casos, identificació de cèl·lules neoplàsiques (blasts) a l'extensió sanguínia. En pediatria especialment però, cal conèixer l'existència de formes "aleucèmiques", aquelles en les que no es troben blasts en sang perifèrica¹³¹.

El diagnòstic s'estableix mitjançant un aspirat o biòpsia de moll d'os. El diagnòstic d'extensió inclou l'anàlisi de líquid cefaloraquídi per tal d'identificar casos amb alt risc de recaiguda a sistema nerviós central, en els que cal

utilitzar pautes de tractament amb dosis sistèmiques i teràpia intratecal més agressives.

Abans de l'inici de tractament s'ha de fer un despistatge d'infeccions latents que poden reactivar-se amb la immunosupressió secundària com el citomegalovirus, el virus d'Ebstein Barr, el virus de la immunodeficiència humana, el virus de l'hepatitis B, i varicel·la zòster; així com avaluar la bioquímica renal, hepàtica, i la coagulació ¹³².

La LLA es una malaltia que es comporta de forma heterogènia segons marcadors morfològics, immunològics, bioquímics, i citogenètics.

Segons la morfologia, el sistema de classificació Francès-Americà-Britànic (FAB) ¹³³ distingeix:

- La leucèmia limfoblàstica tipus 1 (L1), de cèl·lules petites de citoplasma escàs, cromatina condensada, i nuclèols indistints. El 90% del casos pediàtrics corresponen a aquest tipus.
- La leucèmia limfoblàstica tipus 2 (L2), de cèl·lules grans, cromatina dispersa i nuclèols múltiples.
- La leucèmia limfoblàstica tipus 3 (L3), de cèl·lules amb citoplasma basòfil vacuolat o cèl·lules madures. De mal pronòstic i més pròpia de l'adult.

Segons l'immunofenotip es distingeixen en precursora-B, precursora-B amb trets mieloides, B madura i T ¹³⁴.

Pel que fa a les característiques citogenètiques, les anormalitats numèriques i/o estructurals dels cromosomes s'associen a pronòstics diferents segons l'alteració. Els nens amb blasts amb hiperdiploïdies (54-58 cromosomes) solen tenir millor pronòstic, i els protocols contemplen pautes de tractament menys agressives. La hiperdiploïdia extrema (més de 59 cromosomes) o la hipodiploïdia (menys de 45 cromosomes) s'associa a pitjor pronòstic, pel que les pautes de tractament en ells seran més agressives i, per tant, més tòxiques. Certes translocacions també s'associen a pronòstic més dolent, com la t(9;22) BCR/ABL (cromosoma Philadelphia), t(4;11) MLL/AF4, entre d'altres; i algunes, a millor pronòstic, com la t(12;21) TEL/AML1.

Des de la introducció dels quimioteràpics a meitats del segle vint, amb diferents protocols progressivament s'ha incrementat la supervivència, en el cas dels nens, fins a xifres de al voltant del 80-90% dels casos tractats.

El tractament de la LLA s'individualitza segons el risc de la malaltia. I els principals factors que modifiquen el risc i que inclouen el diferents protocols de tractament són: l'edat (menor risc en nens d'1 a 9 anys), la xifra de leucòcits (més risc a més alta), l'immunofenotip (millor la B-comú, pitjor la de cèl·lules madures), la citogenètica i la resposta al tractament.

El diferents protocols de tractament consten d'una fase d'inducció a la remissió, una d'intensificació o consolidació i un tractament de manteniment perllongat. La durada total del tractament és d'uns dos anys. El tractament intratecal, que s'administra a les fases inicials, té una durada variable segons el risc de recaiguda (alt si hi ha alta càrrega de malaltia (alt nombre de blasts), si hi ha blasts a líquid cefaloraquidi o si és tipus T), la intensitat del tractament sistèmic i si s'associa o no radioteràpia.

En la fase d'inducció a la remissió es sol administrar un glucocorticoide (prednisona o dexametasona), vincristina i un altre agent (asparaginasa o antraciclínics, o tots dos). Amb això, més del 95% dels casos entren en remissió. Aquest tractament s'intensifica en cas d'alt risc. Aquesta es la fase més crítica del tractament pel que fa a complicacions secundàries a la quimioteràpia (efectes citotòxics, i pel que fa al risc infecció, la immunosupressió secundària greu).

En la fase d'intensificació o consolidació es solen utilitzar altes dosis de metotrexat amb mercaptopurina, amb o sense asparaginasa afegida (segons el protocol) durant un període perllongat; i es sol finalitzar amb un cicle de reinducció. Aquesta fase també inclou el transplantament de precursors hematopoètics en els casos de molt alt risc.

El tractament de manteniment es basa en règims combinats de metotrexat setmanal i mercaptopurina diària. Durant aquesta fase, la immunosupressió és menor, donat que les dosis s'ajusten per tal de mantenir unes xifres de leucòcits al voltant de 3000 cèl·lules per mm^3 , minimitzant el risc de recaiguda i sense tenir l'individu immunosuprimit greument.

1.8.2. Complicacions infeccioses en els nens en tractament amb leucèmia

La toxicitat dels fàrmacs i les complicacions infeccioses ocasionen gran part de la mortalitat associada al tractament de la LLA. Pel que fa a les complicacions infeccioses, la fase d'inducció a la remissió és la de més alt risc; doncs és quan les neutropènies solen ser més profundes i llargues, i s'afegeix una immunosupressió cel·lular per corticoteràpia perllongada, l'alteració de barreres físiques (mucositis) i la porta d'entrada d'un catèter venós central amb altres factors de risc infeccions afegits, com la nutrició parenteral en els casos de mucositis greu. És ben coneguda la predisposició a la infecció per bacteries

gram negatives, fongs filamentosos i llevats, així com el *Pneumocystis jiroveci*. A aquests riscos s'han adaptat les pautes de tractament antimicrobià en aquests nens en tractament quan presenten febre o altres signes clínics d'infecció. Certs pacients, com els que tenen leucèmies neonatals o durant el primer any de vida, o si s'associen a síndrome de Down, tenen un risc infecció encara major.

Respecte a les complicacions ocasionades per virus respiratoris en els nens amb quimioteràpics per diversos motius, no se'n té àmplia informació, i la poca que hi ha és heterogènia, donat que les tècniques de diagnòstic virològiques i els virus cercats són diferents entre cada sèrie. Molt d'aquests estudis es basen en tècniques de detecció d'antígens, i cal recordar que les tècniques de microbiologia molecular que permeten el diagnòstic etiològic amb una alta sensibilitat i especificitat no han estat molt àmpliament esteses en l'àmbit fins fa pocs anys¹³⁵.

S'ha descrit que entre un i dos terços dels síndromes febrils en nens en tractament quimioteràpic són ocasionats per infeccions respiratòries víriques¹³⁵. De totes maneres, les infeccions bacterianes coexisteixen en nens amb infecció per virus respiratoris, fins a en un 10% dels casos i, també, sense caler presentar coinfecció bacteriana s'han descrit males evolucions de nens en tractament quimioteràpic amb broncopneumònies per VRS¹³⁶, així com altres virus respiratoris^{137, 138}. La neutropènia i la limfopènia s'han proposat com a indicadors de risc per a presentar una mala evolució davant infeccions per virus respiratoris^{139, 140}, tot i que és conegut que, en la resposta immune contra els virus, el paper dels neutròfils no és preponderant. S'ha proposat la destrucció de l'epiteli broncoalveolar, que s'associaria a les mucositis que coincideixen amb els períodes de neutropènia, com un dels motius que predisposarien a una malaltia pulmonar més greu per virus respiratoris¹⁴¹. En alguna sèrie, els casos de mortalitat en nens amb leucèmia limfàtica s'han descrit associats a infeccions víriques amb sobreinfeccions fúngiques o bacterianes¹³⁵. La mortalitat, però, sol associar-se als casos que requereixen transplantament de

precursors hematopoètics, malgrat aquesta sol ser inferior que en el cas dels adults i es situa entorn al 10% dels infectats ¹⁴². Això és degut a que la preparació per a la infusió dels precursors hematopoètics requereix l'administració prèvia d'altres dosis de quimioteràpics i/o radiació, en prevenció del rebuig que podria ocasionar el deixar cèl·lules immunes de l'hoste, i per a eliminar la malaltia oncològica residual. Aquests règims pre-transplantament deixen els pacients profundament immunocompromesos durant mesos. El rebuig, encara que es presenti en formes lleus, també modula la resposta immune ¹⁴³.

Respecte als virus de la grip interpandèmics en concret, i en nens en tractament quimioteràpic, s'ha descrit que la incidència d'infecció sol ser més alta que en la població sana, però no està del tot clar que l'evolució sigui pitjor que en el cas dels individus sans ¹⁴⁴, malgrat ser un grup proposat com a de risc per la OMS per a presentar malaltia greu. Aquests estudis, però també inclouen pacients amb diferents tipus de neoplàsies i tractaments. Es creu que la immunosupressió secundària a la pròpia leucèmia (per la invasió medul·lar i l'*stop* maduratiu de les cèl·lules que participen en la resposta immune) fa que aquesta població sigui més susceptible de presentar complicacions infeccioses en comparació als nens que reben quimioteràpics per al tractament de tumors sòlids ¹⁴⁵. Amb les dades publicades a la literatura, és difícil distingir les diferents freqüències i mortalitat entre pacients amb diferents malalties oncològiques i diferents tractaments. No existeix cap sèrie àmplia que descriu la malaltia per virus de la grip en nens amb leucèmia limfàtica aguda, per tant, no existien clares evidències en referència al tractament antiviral o la necessitat o no d'ingrés dels nens amb LLA i febre amb grip confirmada, especialment en aquells casos en tractament quimioteràpic de manteniment. En el Pla d'actuació a Catalunya enfront d'una infecció pel nou virus de la grip A(H1N1)pdm09, del Departament de Salut es recomanà l'ingrés i tractament dels nens amb tractament immunosupressor ¹²¹.

Pel que fa a la vacunació, fins al moment de fer els estudis no existien dades sobre la eficàcia de la vacuna pel nou virus en pacients amb immunosupressió, però al nostre centre es vacunaren tots els nens amb leucèmia limfàtica aguda un cop comercialitzada la vacuna, seguint les recomanacions dels CDC, la OMS i les autoritats sanitàries locals. Els pocs estudis fets en nens per LLA respecte a l'eficàcia per tal d'assolir títols protectors amb la vacunació per a la grip estacional, deien que més del 50% dels pacients vacunats amb dues dosis durant el tractament de manteniment assolien títols protectors ¹²⁷. Aquest percentatge, però no és extrapolable a altres nens en diferents estadis de tractament o per altres malalties oncològiques ¹⁴⁶.

JUSTIFICACIÓ I HIPÒTESIS

2. JUSTIFICACIÓ I HIPÒTESIS

Com hem desenvolupat al llarg de la introducció, la informació relativa a la malaltia per grip *A(H1N1)pdm09* en pacients pediàtrics era molt escassa, especialment es desconeixien o es tenia informació heterogènia sobre les característiques dels pacients que desenvoluparien l'espectre de malaltia greu que requeriria tècniques de suport vital avançat (ventilació mecànica, depuració extrarrenal, tractament inotròpic,...) a les unitats de cures intensives pediàtriques. Tampoc existia informació àmplia sobre el paper de la coinfecció per *Streptococcus pneumoniae* en el pacient pediàtric ni evidència de en quines situacions caldria tractar una eventual sobreinfecció, malgrat s'extrapolà informació d'altres pandèmies anteriors i de les descripcions dels primers casos. No existia cap sèrie exclusivament pediàtrica que descrigués els valors de càrrega viral al diagnòstic ni que avalués el paper d'aquesta com a biomarcador de risc en el nen ingressat.

Així doncs, donada l'absència de dades i sèries àmplies, coincidint amb l'inici de la pandèmia a l'Amèrica llatina i en previsió de la seva arribada al nostre medi, es va creure oportú iniciar un estudi observacional prospectiu al nostre centre (Hospital Universitari Sant Joan de Déu) per tal de descriure la malaltia per grip *A(H1N1)pdm09* en el nen que requeria ingrés. Posteriorment es va decidir avaluar-ne retrospectivament la utilitat clínica dels valors de càrrega viral al diagnòstic i la seva relació amb diferents variables epidemiològiques i clíniques en els pacients que ingressaren per malaltia respiratòria. Paral·lelament també es seleccionà una població de risc (nens en tractament quimioteràpic per leucèmia limfàtica aguda (LLA)), encara que no requerissin ingrés, per avaluar-ne les característiques de la malaltia ja que d'aquest grup poblacional tampoc se n'havia fet cap descripció de la malaltia per grip *A(H1N1)pdm09*.

Els resultats d'aquests treballs ens havien de permetre conèixer:

- El perfil del nen que requereix ingrés en el nostre medi degut a la malaltia per grip *A(H1N1)pdm09*, així com tenir una nova orientació sobre l'impacte de la pandèmia en els diferents grups de risc pediàtrics extrapolats dels grups de risc de la grip estacional.
- Quina és la clínica del nen que requereix ingrés i quina és la variabilitat de l'expressió de malaltia pulmonar d'un nou virus respiratori, del qual el comportament no es sabia quin seria.
- Quin és el comportament i quins indicadors poden ser útils per detectar els nens coinfectats amb pneumococ, així com es podria determinar quin és el paper d'aquesta coinfecció en la gravetat de la malaltia per grip *A(H1N1)pdm09* en els nens.
- Quines són les característiques dels pacients amb grip *A(H1N1)pdm09* que requereixen ingrés a la unitat de cures intensives pediàtriques (UCIP).
- Orientar quina pot ser la importància del tractament antiviral precoç en aquells pacients que requereixen ingrés per malaltia respiratòria grip *A(H1N1)pdm09*.
- Fer una descripció de la gravetat de la malaltia per grip *A(H1N1)pdm09* ens nens amb leucèmia limfàtica aguda segons l'estadi de tractament en què es troben i conèixer les complicacions, així com, en quins pacients és més probable que es donin.

- Descriure quins són els valors de càrrega viral al diagnòstic d'una població pediàtrica que requereix ingrés.
- Descriure si alguna variable epidemiològica i/o condició de risc descrita en població pediàtrica per a grip estacional s'associa a majors càrregues virals i descriure, si existeix, la correlació entre gravetat de malaltia per grip *A(H1N1)pdm09* i valors de càrrega viral.

Així doncs, a part de l'interès del component descriptiu dels treballs, s'establiren les següents hipòtesis de treball:

- 1. Els pacients que requereixen ingrés en què s'inicia tractament precoç amb oseltamivir tenen una millor evolució i requereixen amb menys freqüència ingrés a UCIP.
- 2. La població pediàtrica que requereix ingrés a la UCIP és diferent respecte a la que no requereix UCIP en quant a: característiques epidemiològiques (edat), comorbiditat, característiques analítiques (paràmetres inflamatoris) i coinfecció.
- 3. Existeixen diferències clíniques i analítiques entre els pacients coinfectats per *Streptococcus pneumoniae* i els que no ho estan.
- 4. Existeix un diferent comportament en els nens amb leucèmia limfàtica aguda segons la fase de tractament a la que estan sotmesos.

- 5. La quantificació de la càrrega viral pot utilitzar-se com a biomarcador de risc, i té implicacions en el pronòstic i el maneig del pacient després d'entendre la interpretació dels resultats en diferents contextos clínics i la seva relació amb variables epidemiològiques.

OBJECTIUS

3. OBJECTIUS

D'acord amb les hipòtesis descrites, els objectius plantejats en els tres estudis que conformen la Tesi doctoral són:

1. Primer estudi: *Delays in starting treatment with Oseltamivir were associated with a more severe disease.* The Pediatric Infectious Diseases Journal (2011) 30, 622-625.

Objectiu general:

- Descriure l'espectre de malaltia per grip *A(H1N1)pdm09* moderat i greu (aquells casos que requereixen ingrés) en la població pediàtrica al nostre medi.

Objectius específics:

- Descriure diferències clíniques i analítiques entre els pacients que requereixen ingrés a la UCIP i els que no el requereixen.
- Descriure diferències clíniques i analítiques entre els pacients coinfectats amb *Streptococcus Pneumoniae* i els que no ho estan.

- Determinar si els pacients amb retard en l'inici del tractament antiviral presentaren una pitjor evolució, requerint ingrés a la UCIP.

2. Segon estudi: *Pandemic influenza A (2009 H1N1) in children with acute lymphoblastic leukaemia*. British Journal of Haematology (2010) 149, 874–878.

Objectiu general:

- Descriure la malaltia per grip *A(H1N1)pdm09* en pacients pediàtrics en tractament per leucèmia limfàtica aguda, tant els ingressats com els que s'optà per tractar i seguir ambulatoriament.

Objectius específics:

- Descriure diferències en la malaltia per grip *A(H1N1)pdm09* entre els nens en fases de tractament intensiu i els nens en tractament de manteniment (nens que segueixen el protocol de tractament de la Societat espanyola d'Hematologia i Oncologia pediàtrica (SHOP), del 2008).

3. Tercer estudi: *Viral load a diagnosis and Influenza A H1N1 (2009) disease severity in children.* Influenza and Other Respiratory Viruses (2012)
DOI: 10.1111/j.1750-2659.2012.00383.x

Objectiu general:

- Descriure els valors de càrrega viral de grip *A(H1N1)pdm09* al moment del diagnòstic en relació amb variables epidemiològiques i clíniques en els pacients ingressats amb clínica respiratòria.

Objectius específics:

- Avaluat els valors de càrrega viral de grip *A(H1N1)pdm09* al diagnòstic com a biomarcador de gravetat de la malaltia.

RESULTATS

4. RESULTATS

Els resultats dels tres estudis presentats han estat publicats en tres articles que es presenten a continuació dels quals el doctorand n'és el primer autor. Aquests tres articles s'han publicat en revistes situades en el primer quartil de factor d'impacte en les seves àrees de coneixement.

Primer article:

2009 Influenza A H1N1 infections: delays in starting treatment with oseltamivir were associated with a more severe disease.

Cristian Launes, Juan J. García-García, Iolanda Jordán, Aina Martínez-Planas, Laura Selva, i Carmen Muñoz-Almagro

Pediatric Infectious Diseases Journal. 2011; 30:622-625

ISI Journal Citation Reports® Ranking: 2010: 9/109 Pediatrics; Impact Factor: 3.064

Segon article:

Pandemic influenza A (2009 H1N1) in children with acute lymphoblastic leukaemia.

Cristian Launes, Susana Rives, Albert Català, Rubén Berrueco, Teresa Toll, Mireia Camós, Carmen Muñoz-Almagro, Juan J. García-García, i Jesús Estella

British Journal of Haematology. 2010; 149:874-878.

ISI Journal Citation Reports® Ranking: 2010: 11/66 Hematology; Impact Factor: 4.942

Tercer article:

Viral load at diagnosis and Influenza A H1N1 (2009) disease severity in children.

Cristian Launes, Juan J. García-García, Iolanda Jordan, Laura Selva, Jordi Rello, Carmen Muñoz-Almagro.

Influenza and Other Respiratory Viruses. 2012. DOI: 10.1111/j.1750-2659.2012.00383.x

ISI Journal Citation Reports® Ranking: 2010: 12/58 Infectious Diseases; Impact Factor: 3.812

Primer article:

2009 Influenza A H1N1 infections: delays in starting treatment with oseltamivir were associated with a more severe disease.

Cristian Launes, Juan-José García-García, Iolanda Jordán, Aina Martínez-Planas, Laura Selva, i Carmen Muñoz-Almagro

Article publicat a
Pediatric Infectious Diseases Journal. 2011; 30: 622-625.

BRIEF REPORTS

2009 INFLUENZA A H1N1 INFECTIONS

DELAYS IN STARTING TREATMENT WITH OSELTAMIVIR WERE ASSOCIATED WITH A MORE SEVERE DISEASE

Cristian Launes, MD, Juan-José García-García, MD, PhD,*
Iolanda Jordán, MD, PhD,† Aina Martínez-Planas, MD,*
Laura Selva, MSc,‡ and Carmen Muñoz-Almagro, MD, PhD‡*

Abstract: Respiratory failure has been the main severe complication described in pediatric patients with influenza A H1N1 2009 (pandemic H1N1) infection. We describe the pandemic H1N1 2009 disease in children who required hospital admission and the patients' data associated with pediatric intensive care unit admission. Respiratory failure was the main complication. Extrapulmonary manifestations were also observed. Of the 127 patients, 24 required pediatric intensive care unit admission. Four patients died. Patients admitted with chronic conditions and those in whom oseltamivir was delayed more than 72 hours had a more severe disease.

Key Words: 2009 influenza A H1N1, children, oseltamivir

Accepted for publication November 30, 2010.

From the *Infectious Diseases Unit, Department of Pediatrics, Hospital Universitari Sant Joan de Déu, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain; †Pediatric Intensive Care Unit, Hospital Universitari Sant Joan de Déu, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain; and ‡Department of Molecular Microbiology, Hospital Universitari Sant Joan de Déu, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain.

Address for correspondence: Cristian Launes, MD, Pediatric Infectious Diseases Unit, Hospital Sant Joan de Déu de Barcelona, Passeig Sant Joan de Déu n°2, 08150 Esplugues de Llobregat, Barcelona, Spain.
E-mail: claunes@hsjdbcn.org, or juanjo@hsjdbcn.org.

Supplemental digital content is available for this article. Direct URL citations appear in the printed text and are provided in the HTML and PDF versions of this article on the journal's Web site (www.pidj.com).

Copyright © 2010 by Lippincott Williams & Wilkins

DOI: 10.1097/INF.0b013e3182093397

http://journals.lww.com/pidj/Abstract/2011/07000/2009_Influenza_A_H1N1_Infections__Delays_in.25.aspx

http://journals.lww.com/pidj/Abstract/2011/07000/2009_Influenza_A_H1N1_Infections__Delays_in.25.aspx

http://journals.lww.com/pidj/Abstract/2011/07000/2009_Influenza_A_H1N1_Infections__Delays_in.25.aspx

SDC 1. Patients admitted with Pandemic H1N1 2009 infection from the 30th to the 50th week of 2009 (Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain).

http://journals.lww.com/pidj/Abstract/2011/07000/2009_Influenza_A_H1N1_Infections__Delays_in.25.aspx

Resum del primer article:

Es tracta d'un estudi observacional prospectiu en el que es van incloure tots els pacients menors de 18 anys d'edat que ingressaren al nostre centre amb infecció confirmada per grip *A(H1N1)pdm09* entre la setmana 30 i 50 de 2009. Es van recollir dades epidemiològiques i clíniques, així com el tractament i cures rebudes. Es va fer la prova de detecció del virus, la detecció del material genètic mitjançant una real-time RT-PCR (Roche Diagnostics' Influenza A/H1N1 Detection Set kit), en aquells pacients amb clínica respiratòria que requeriren ingrés i en aquells menors de 3 anys d'edat que van ingressar amb febre sense focus. No es va intervenir en la recollida sistemàtica de mostres per a cultiu bacterià ni per a la detecció d'altres virus respiratoris, quedant a criteri de l'equip mèdic fer-ho o no.

L'Hospital Sant Joan de Déu (Barcelona) és un centre monogràfic pediàtric de tercer nivell, amb 280 llits d'hospitalització pediàtrica i una Unitat de Cures Intensives Pediàtrica (UCIP) amb 18 llits, amb capacitat per assumir pacients que requereixen suport circulatori i/o pulmonar amb bomba i membrana d'oxigenació extracorpòria. És centre de referència a l'estat per a pacients neurològics, cardíacs, nens amb neoplàsies hematològiques i tumors sòlids.

Els resultats d'aquest primer estudi són:

1. Característiques epidemiològiques i comorbiditats:

1. Ingressaren 127 nens amb el diagnòstic de grip *A(H1N1)pdm09*. L'edat mitjana va ser de 4 anys (rang interquartílic (RIQ), de 14 mesos fins a 8 anys i 4 mesos). Setanta-dos (57%) eren homes. Ningú havia rebut la vacunació per a grip *A(H1N1)pdm09*.

2. Cinquanta-sis (44%) tenien una malaltia crònica coneguda. Les més freqüents eren les encefalopaties, les malalties pulmonars cròniques, i la immunosupressió, secundària a quimioteràpics, principalment. L'edat mitjana dels nens amb patologia de base va ser més alta que en el grup de pacients sense malaltia prèvia coneguda (veure Taula, *Supplemental Digital Content 1*).

2. Clínica:

2.1. Els criteris de malaltia compatible amb grip de la OMS (*ILI diagnostic criteria*)⁹² es compliren en 107 de 127 nens (84%) a l'ingrés. Els altres tenien: destret respiratori sense febre (n=13), febre sense focus (n=4), convulsions febrils sense simptomatologia respiratòria inicialment (n=2) i simptomatologia gastrointestinal sense clínica respiratòria inicialment (n=1).

2.2. S'observaren manifestacions extrapulmonars:

- Tres casos d'encefalopaties agudes (alteracions del nivell de consciència/síndromes confusionals sense lesió estructural i limitades en menys de 24 hores); una d'elles en un lactant en el que la RT-PCR va resultar positiva en líquid cefaloraquidi ¹⁴⁷.
- Dos nens desenvoluparen una miopericarditis, una d'elles fulminant.
- Tres debuts d'arítmies en nens d'edat escolar (dos pacients amb extrasístoles ventriculars freqüents i un nen amb una taquicàrdia paroxística supraventricular) sense alteració en els nivells de troponines.
- Un nen de 6 anys desenvolupà una síndrome hepatorenal, requerint suport extrarrenal durant 3 setmanes.

2.3. Vint-i-quatre de 127 pacients requeriren ingrés a la UCIP. Quinze tenien una malaltia crònica coneguda (sent les encefalopaties amb afectació cognitiva el grup més important). La principal causa d'ingrés va ser la fallada respiratòria aguda (n=18). Es va poder utilitzar el suport respiratori no invasiu amb dos nivells de pressió de forma efectiva en la majoria dels nens. Nou nens requeriren ventilació mecànica invasiva.

2.4. Quatre pacients van morir. Tres d'ells, amb una malaltia neurològica prèvia amb afectació cognitiva greu, després de decidir una limitació de l'esforç terapèutic davant la necessitat de ventilació mecànica o reintubació. Una nena de 4 anys prèviament sana va morir per una miocarditis fulminant.

3. Coinfecció pneumocòccica:

En 13 de 127 pacients (10%) es va demostrar coinfecció pneumocòccica mitjançant cultiu de líquids normalment estèrils o detecció del material genètic de la bactèria en líquids normalment estèrils. Comparant els nens coinfectats i els que no ho estaven, s'observaren diferències en la clínica (més temps d'evolució de la febre en els nens coinfectats, i febre més alta), en paràmetres analítics (major proporció de neutròfils en banda i majors nivells de PCR), i en l'evolució (malgrat no tenien un major risc d'ingrés a la Unitat de Cures Intensives, els nens coinfectats sí requeriren més temps d'ingrés hospitalari).

Els cultius de rentat broncoalveolar en els pacients que van requerir ventilació mecànica invasiva foren negatius.

4. Risc de malaltia greu – utilitat del tractament antiviral:

Retardar el tractament més enllà de les primeres 72 hores de clínica (Odds-ratio, 3.7 (interval de confiança del 95% (IC95%): 1.1 – 11.7)) i tenir una malaltia de base (Odds-ratio, 4.1 (IC95%: 1.1 – 15)) van ser els principals factors que s'associaren amb la necessitat d'ingrés a UCIP en el model multivariant que també inclou altres variables associades a la necessitat d'ingrés a UCIP amb una $p < 0.2$ en el model univariant, com els nivells de PCR i l'edat.

Segon article:

Pandemic influenza A (2009 H1N1) in children with acute lymphoblastic leukaemia.

Cristian Launes, Susana Rives, Albert Català, Rubén Berrueco, Teresa Toll, Mireia Camós, Carmen Muñoz-Almagro, Juan J. García-García, i Jesús Estella

Article publicat a

British Journal of Haematology. 2010; 149: 874-878.

Pandemic influenza A (2009 H1N1) in children with acute lymphoblastic leukaemia

Cristian Launes,¹ Susana Rives,¹ Albert Català,¹ Rubén Berrueto,¹ Teresa Toll,¹ Mireia Camós,¹ Carmen Muñoz-Almagro,² Juan J. García-García³ and Jesús Estella¹

Departments of ¹Paediatric Haematology, ²Paediatric Microbiology, and ³Paediatrics, Hospital Sant Joan de Déu de Barcelona, Barcelona, Spain

Received 15 January 2010; accepted for publication 22 February 2010

Correspondence: Dr Susana Rives, Department of Paediatric Haematology, Hospital Sant Joan de Déu de Barcelona, Passeig Sant Joan de Déu nº2, 08150 Esplugues de Llobregat, Barcelona, Spain. E-mail: srives@hsjdbcn.org

Summary

Pandemic influenza A (2009-H1N1) usually results in mild clinical illness, but in some individuals it can be life-threatening. There are no reports of this disease among paediatric patients with acute lymphoblastic leukaemia (ALL). We report ten consecutive patients with ALL and pandemic influenza treated in a single institution. Median age was 7 years (range: 3–12). All were treated with oseltamivir. There were no deaths. Two patients under intensive chemotherapy developed pneumonia and one required ventilatory support. ALL patients under maintenance treatment had mild disease. In conclusion, in our series only patients under intensive treatment developed a moderate to severe disease.

Keywords: acute lymphoblastic leukaemia, influenza, 2009 H1N1, children, oseltamivir.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2141.2010.08178.x/abstract>

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2141.2010.08178.x/abstract>

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2141.2010.08178.x/abstract>

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2141.2010.08178.x/abstract>

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2141.2010.08178.x/abstract>

Resum del segon article:

En aquest estudi, es van incloure de forma prospectiva els deu primers pacients menors de 18 anys d'edat en tractament quimioteràpic per leucèmia limfàtica aguda que van presentar infecció confirmada per grip *A(H1N1)pdm09* durant l'onada pandèmica de 2009 (entre les setmanes 39 a 49). No es va intervenir en la recollida sistemàtica de mostres per a cultiu bacterià ni per a la detecció d'altres virus respiratoris, quedant a criteri de l'equip mèdic fer-ho o no.

Al Servei d'Hematologia de l'Hospital Sant Joan de Déu (Barcelona) es diagnostiquen anualment uns 15-20 nous casos pediàtrics de LLA. Donat que el tractament quimioteràpic té una durada de 2 anys en la majoria dels pacients, entre 30 i 40 nens amb LLA reben tractament cada any en aquest centre. Els nens amb LLA seguien el protocol de tractament de la SHOP 2008

148

Els resultats d'aquest segon estudi són:

1. Clínica inicial:

1.1. Tots 10 pacients presentaren augment de les secrecions respiratòries i tos. Nou d'ells tenien també febre alta i un, febrícula. Tres van presentar clínica gastrointestinal (dolor abdominal i/o vòmits i/o diarrea).

2. Conducta-maneig:

2.1. Tots consultaren precoçment, dins les primeres 48 hores de clínica, i es va iniciar empíricament oseltamivir excepte en el primer cas diagnosticat (abans del pic pandèmic), en que es retardà l'inici de l'antivíric fins al tercer dia d'ingrés, davant un empitjorament de la clínica respiratòria. Es va decidir fer

tractament perllongat amb oseltamivir, fins negativitzar la RT-PCR (7 a 15 dies), en els dos nens en tractament intensiu.

2.2. No tots els pacients varen rebre tractament antibiòtic. Solament els que estaven en les fases intenses de tractament quimioteràpic, per neutropènia, i els nens amb febre perllongada malgrat l'antiviral.

2.3. Els darrers nens diagnosticats de grip *A(H1N1)pdm09* i que estaven en tractament de manteniment per la LLA, no requeriren ingrès.

3. Evolució de la malaltia:

3.1. Els dos pacients en tractament intensiu desenvoluparen una malaltia per grip *A(H1N1)pdm09* més greu, evolucionant cap a una broncopneumònia bilateral:

Un d'ells, de 6 anys d'edat, va requerir ventilació mecànica no invasiva (és el pacient en que s'inicià l'antivíric passats 5 dies de la instauració de la clínica, després de 3 dies d'ingrés). Aquest empitjorament va coincidir amb l'inici de la neutropènia, que es va atribuir al cicle de tractament previ a l'ingrés.

L'altre cas, de 2 anys, també va desenvolupar la broncopneumònia durant la neutropènia secundària a la quimioteràpia. Aquest segon cas no va requerir oxigen suplementari, i va cursar amb un ingrès perllongat per febre alta sostinguda.

3.2. Cap pacient en tractament de manteniment presentà complicacions.

Tercer article:

Viral load at diagnosis and Influenza A H1N1 (2009) disease severity in children.

Cristian Launes, Juan J. García-García, Iolanda Jordan, Laura Selva,
Jordi Rello, Carmen Muñoz-Almagro.

Article publicat a
Influenza and other Respiratory Viruses. 2012.

DOI: 10.1111/j.1750-2659.2012.00383.x

Viral load at diagnosis and influenza A H1N1 (2009) disease severity in children

Cristian Launes,^a Juan J. Garcia-Garcia,^a Iolanda Jordan,^b Laura Selva,^c Jordi Rello,^d Carmen Muñoz-Almagro^e

^aInfectious Diseases Unit, Department of Pediatrics, Hospital Sant Joan de Déu, University of Barcelona, Barcelona, Spain. ^bPediatric Intensive Care Unit, Hospital Sant Joan de Déu, University of Barcelona, Barcelona, Spain. ^cDepartment of Molecular Microbiology, Hospital Sant Joan de Déu, University of Barcelona, Barcelona, Spain. ^dCritical Care Department, Hospital Vall d'Hebron, Autonomous University of Barcelona, CIBERES, Barcelona, Spain. ^eDepartment of Molecular Microbiology, Hospital Sant Joan de Déu, University of Barcelona, Barcelona, Spain.
Correspondence: Cristian Launes, Pediatric Infectious Diseases Unit, Hospital Sant Joan de Déu, Passeig Sant Joan de Déu no2, ES-08150 Esplugues de Llobregat, Barcelona, Spain.
E-mail: claunes@hsjdbcn.org

Accepted 23 April 2012. Published Online 24 May 2012.

To assess viral load at diagnosis (VLAD) as a biomarker of novel influenza disease severity, epidemiologic and clinical data of admitted patients <18 years old with Influenza A H1N1 (2009) infection and respiratory symptoms were prospectively collected in a single pediatric tertiary hospital, from weeks 30–51 of 2009. Seventy patients were included. VLAD in children who had symptoms for ≥ 5 days was an accurate parameter distinguishing

the patients who required mechanical ventilation (MV) from those who did not required it (area under the ROC curve: 0.73; $P = 0.03$). Having $< 4.5 \log_{10}$ copies/ml with ≥ 5 days of symptoms was associated with a lower risk of requiring MV.

Keywords Influenza, mechanical ventilation, pediatrics, respiratory insufficiency, viral load.

Please cite this paper as: Launes et al. (2012) Viral load at diagnosis and influenza A H1N1 (2009) disease severity in children. *Influenza and Other Respiratory Viruses* DOI: 10.1111/j.1750-2659.2012.00383.x.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1750-2659.2012.00383.x/abstract>

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1750-2659.2012.00383.x/abstract>

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1750-2659.2012.00383.x/abstract>

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1750-2659.2012.00383.x/abstract>

Resum del tercer article:

En aquest estudi, es van incloure de forma consecutiva els pacients amb clínica respiratòria que varen requerir ingrés al nostre centre i que presentaren un test diagnòstic (real-time RT-PCR) per a grip *A(H1N1)pdm09* positiu entre la setmana 30 i 51 de 2009.

Es definiren com a casos greus, aquells que requeriren suport respiratori (mitjançant tant ventilació invasiva com ventilació no invasiva) degut a fallada respiratòria o destret respiratori greu.

Es varen recollir prospectivament dades clíniques i epidemiològiques i es quantificà a posteriori la càrrega viral de grip *A(H1N1)pdm09*. Es recolliren les mostres d'aspirat nasofaringi segons les directrius habituals en pauta d'infermeria del centre. El total d'àcids nucleics es varen extreure de les mostres d'aspirat nasofaringi amb el Roche MagNA Pure Compact System (Roche Molecular Diagnostics, Mannheim, Germany) d'acord amb el protocol del fabricant. S'utilitzà com a sistema d'amplificació-detecció el robot LightCycler® 480 II (Roche) i el kit comercial Influenza A/H1N1 Detection Set de Roche Diagnostics dissenyat per a la detecció d'un gen comú a tots els virus influenza A (M2) i un gen específic de la nova variant del virus (H1). El test té un límit de detecció de menys de 10 còpies per reacció de RT-PCR. Per a l'anàlisi quantitatiu, es va generar una corba de calibració amb dilucions decimals a partir de l'equivalent a 1×10^4 còpies per reacció de RT-PCR d'un control positiu del gen M2, proporcionat pel fabricant. La càrrega viral s'extrapola de la corba de calibració utilitzant el llindar de cicles (Ct) de detecció del gen d'M2 corregit pel valor de Ct d'un control intern (el gen de la miostatina humana). L'objectiu d'aquesta correcció era ponderar els resultats de la càrrega viral en relació amb la qualitat de la mostra tal i com es descriu en altres estudis

Es varen excloure els pacients en que la determinació no es realitzà al laboratori del nostre centre i aquells en que la mostra podia ser de mala qualitat (considerades com a tal si el Ct del control intern era > 27).

Els resultats d'aquest tercer estudi són:

1. Dades generals:

1.1. Varen ingressar 93 nens amb destret respiratori i/o hipoxèmia amb infecció confirmada per grip *A(H1N1)pdm09*. Vint-i-tres pacients varen haver de ser exclosos perquè, o bé el Ct del control intern va ser > 27 (11/93), o varen ser diagnosticats en altres laboratoris (12/93). Per tant, s'inclogueren 70 nens a l'estudi. Cap d'ells vacunat contra el nou virus. Cap havia rebut tractament antiviral prèviament a la recollida de la mostra nasofaríngia. Vint requeriren ventilació mecànica (invasiva o no invasiva) per destret respiratori greu o hipoxèmia.

2. Relació dels valors de càrrega viral amb el temps de clínica:

2.1. Existeix una correlació negativa entre la càrrega viral i el temps després de l'inici dels símptomes (Spearman rho = -0.4; $p < 0.05$).

2.2. Es van establir dos grups de pacients en referència als valors de càrrega viral al diagnòstic: el grup de pacients en que es determinà dins els 4 primers dies de clínica i el grup en els que es determinà 5 o més dies després de l'inici dels símptomes (mitjana, 6.0 log₁₀copies/mL (RIQ: 4.6 - 6.8) vs 4.7 (3.9 - 5.7); $p=0.02$).

3. Relació dels valors de càrrega viral amb variables epidemiològiques i malaltia de base

3.1. No es trobaren diferències en quant a càrrega viral amb el sexe o la comorbiditat, després d'ajustar-ho pel temps de clínica en el moment de recollir la mostra d'aspirat. S'observa un increment de la càrrega viral amb l'edat, però el nombre de casos inclosos amb edats superiors a 13 anys és baix (Veure Taula de l'estudi).

4. Relació dels valors de càrrega viral amb variables analítiques:

4.1. Els valors de càrrega viral en els pacients que tenien menys de 5 dies de clínica es va correlacionar inversament amb la xifra de limfòcits (Spearman $\rho = -0.47$; $p < 0.01$), però aquesta correlació no es va mantenir en els pacients amb 5 o més dies de simptomatologia. No es trobaren correlacions/associacions amb els valors de PCR, recompte de neutròfils, ni els nivells totals de l'hemoglobina.

5. Valor de la càrrega viral com a biomarcador de gravetat:

5.1. Es va recórrer a l'anàlisi estadístic mitjançant corbes ROC per analitzar la precisió dels valors de càrrega viral com a biomarcador de gravetat (definida com a necessitat de ventilació mecànica):

- En els nens amb menys de 5 dies de clínica, l'àrea sota la corba va ser de 0.55 (IC95%): 0.39 - 0.69; $p=0.61$.
- En canvi, en nens amb 5 o més dies de clínica, l'àrea sota la corba va ser de 0.73 (IC95%: 0.51 - 0.88; $p=0.03$). En aquest grup de nens, el punt de tall de càrrega viral de 4.5 log₁₀copies/ml tenia els valors més alts de sensibilitat (100%, IC95%: 63.1 – 100) i especificitat (65%, IC95%: 38.3 – 85.8). Tenir menys de 4.5 log₁₀copies/mL de

càrrega viral amb més ≥ 5 dies de clínica s'associà a un menor risc de requerir ventilació mecànica (risc relatiu (RR) = 0.13 (IC95%: 0.02 – 0.92)).

5.2. Els nens amb símptomes durant 5 o més dies amb valors de càrrega viral ≥ 4.5 log₁₀copies/ml tingueren un major risc de requerir ventilació mecànica en comparació amb aquells nens que excedien aquests valors però que encara es trobaven en els primers 4 dies de clínica (RR = 2.08 (IC95%: 1.07 - 4.05)).

ANNEX

5. ANNEX DE RESULTATS

En el transcurs de la realització dels estudis que componen aquesta memòria, el doctorand ha participat en altres projectes, vinculats amb la línia d'investigació de virologia respiratòria i infeccions respiratòries de la infància.

Un d'aquests treballs pretenia avaluar i comparar variables sociodemogràfiques i clíniques (comorbiditat) entre els nens que requeriren ingrés hospitalari per malaltia per grip *A(H1N1)pdm09* i aquells en els que es va fer el seguiment de forma ambulatoria, exclusivament. Es tracta un treball multicèntric en el que participaren 32 hospitals espanyols i que s'inicià el juliol de 2009 i finalitzà el febrer de 2010.

El segon treball que es presenta en l'annex d'aquest dossier pretenia avaluar la freqüència amb la que es troben diferents virus respiratoris coinfectant els nens amb malaltia pneumocòccica invasiva i la relació entre diferents grups de serotips i aquestes coinfeccions. L'estudi inclogué la major part de l'onada pandèmica de grip de 2009 (s'inicià l'agost de 2008 i es finalitzà el desembre de 2009).

Quart article:

2009 H1N1: Risk-factors for hospitalization in a matched case-control study

Cristian Launes, Juan Jose García-García, Aina Martínez-Planas, Fernando Moraga, Itziar Astigarraga, Javier Arístegui, Javier Korta, Concepción Salado, José María Quintana, Nuria Soldevila, Angela Domínguez; and the CIBERESP Cases and Controls in Pandemic Influenza Working Group, Spain.

European Journal of Pediatrics. 2012. DOI:10.1007/s00431-012-1716-6
ISI Journal Citation Reports® Ranking: 2010: 46/109. Pediatrics; Impact Factor: 1.644.

Cinquè article:

Viral coinfection in children less than 5 year-old with invasive pneumococcal disease.

Cristian Launes, Mariona F. de-Sevilla, Laura Selva, Juan J. García-García, Román Pallares, Carmen Muñoz-Almagro.

Pediatric Infectious Diseases Journal. 2012.

DOI: 10.1097/INF.0b013e31824f25b0

ISI Journal Citation Reports® Ranking: 2010: 9/109 Pediatrics; Impact Factor: 3.064

Quart article:

2009 H1N1: Risk-factors for hospitalization in a matched case-control study

Cristian Launes, Juan José García-García, Aina Martínez-Planas, Fernando Moraga, Itziar Astigarraga, Javier Arístegui, Javier Korta, Concepción Salado, José María Quintana, Núria Soldevila, Àngela Domínguez; and the CIBERESP Cases and Controls in Pandemic Influenza Working Group, Spain.

Article publicat a
European Journal of Pediatrics. 2012.

DOI: 10.1007/s00431-012-1716-6

2009 H1N1: risk factors for hospitalization in a matched case-control study

Cristian Launes · Juan-José García-García ·
Aina Martínez-Planas · Fernando Moraga ·
Itziar Astigarraga · Javier Arístegui · Javier Korta ·
Concepción Salado · José M. Quintana ·
Núria Soldevila · Àngela Domínguez ·
the CIBERESP Cases and Controls in Pandemic Influenza
Working Group, Spain

Received: 19 December 2011 / Accepted: 29 February 2012
© Springer-Verlag 2012

Abstract In order to compare sociodemographical data and preexisting risk medical conditions in patients requiring hospital admission for 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus infection and those managed on an outpatient basis, a prospective observational, matched case-control study in 36 hospitals of the Spanish National Health Service was conducted from July 2009 to February 2010. Cases were patients aged 6 months to 18 years hospitalized for influenza syndrome, in whom 2009 influenza A (H1N1) virus infection was confirmed using real-time reverse-transcription polymerase chain reaction. Controls were patients aged 6 months to 18 years with confirmed 2009 influenza A (H1N1) infection managed on an outpatient basis. There

were 195 cases and 184 controls. In a multivariate model, hospitalization was more frequent in children aged <2 years (odds ratio (OR), 13.8; 95% confidence interval (CI), 1.7–106.4), those with neurological and/or neuromuscular diseases (OR, 3.0; 95% CI, 1.1–8.2), and those whose parents had less than a secondary educational level (OR, 2.7; 95% CI, 1.4–5.2). Children aged <2 years, children with neurological diseases, and children from families with a lower educational status had a higher risk of hospitalization due to influenza A (H1N1) 2009 infection.

Keywords Influenza A virus · Children · Risk factors · Hospitalization · Pediatrics

<http://www.springerlink.com/content/p31j63v427213421/>

<http://www.springerlink.com/content/p31j63v427213421/>

<http://www.springerlink.com/content/p31j63v427213421/>

<http://www.springerlink.com/content/p31j63v427213421/>

<http://www.springerlink.com/content/p31j63v427213421/>

Resum del quart article:

Davant la previsible arribada de l'onada pandèmica de grip *A(H1N1)pdm09*, el *Ministerio de Ciencia e Innovación* en el seu *Programa de Investigación sobre la gripe (H1N1) 2009 en España* sol·licità projectes d'investigació per tal de conèixer els trets característics de la infecció pel nou virus a diversos nivells d'estudi, entre ells l'epidemiològic. El *CIBER de Epidemiología y Salud Pública* presentà un projecte d'investigació els objectius del qual foren investigar els factors associats a la gravetat de la malaltia, la utilitat del tractament amb inhibidors de la neuroaminidasa, la efectivitat de les vacunes pre-pandèmiques i la pandèmica per evitar hospitalitzacions i morts, així com amb les vacunes antipneumocòcciques 23-valent i 7-valent conjugada, i investigar la efectivitat de les mesures no farmacològiques per a prevenir l'hospitalització i mort pel nou virus.

Una part d'aquests objectius, la que correspon a la d'investigar els factors de gravetat associats a la malaltia, la efectivitat de la vacuna pre-pandèmica, així com de l'antipneumocòccica 7-valent conjugada en la prevenció d'hospitalitzacions en nens motivaren el treball que es presenta.

Molt pocs estudis han comparat dades epidemiològiques i clíniques (comorbiditat) entre els nens amb malaltia per grip *A(H1N1)pdm09* que requeriren ingrés i els que es pogueren controlar exclusivament ambulatòriament. La major part d'estudis a la literatura internacional, fins al moment, s'havien dirigit a descriure els factors de risc per a presentar una mala evolució (requerint ventilació mecànica o sent èxitus) en nens ja ingressats.

Amb aquests objectius s'inicià un estudi observacional prospectiu cas-control multicèntric a 32 hospitals de set comunitats autònomes d'Espanya

(Andalusia, País Basc, Castella i Lleó, Catalunya, Madrid, Navarra i València) des de Juliol de 2009 fins a febrer de 2010. Els casos foren pacients de 6 mesos fins a 18 anys d'edat ingressats per malaltia confirmada amb RT-PCR per a grip *A(H1N1)pdm09*. Els controls varen ser pacients del mateix rang d'edat amb infecció també confirmada per RT-PCR que requeriren únicament controls ambulatoris del sistema nacional de salut. Es van recollir variables sociodemogràfiques i algunes clíniques (comorbiditat i estat vacunal per a grip estacional i antipneumocòccica heptavalent). També es recolliren dades sociodemogràfiques i de salut/hàbits dels pares. L'estudi comptava amb l'aprovació dels comitès d'ètica del centres participants i s'obtingué el consentiment informat de tots els pares/tutors dels individus inclosos.

Els resultats d'aquest estudi són:

1. Es van incloure un total de 379 pacients, dels quals 212 (56%) eren varons. La mitjana d'edat va ser 5.8 anys (RIQ: 2.2-11.4); 232 (61%) eren prèviament sans.
2. Entre els 125 nens amb una malaltia crònica de les definides de risc per la OMS ⁵, la vacunació de la grip estacional havia estat administrada a 42 (34%). Només 4 dels 78 (5%) nens menors de 2 anys havien estat vacunats. D'ells, només un era un nen prèviament sa.
3. Comparant els nens que requeriren hospitalització amb aquells que es varen tractar de forma ambulatoria, els nens hospitalitzats eren més joves (5.6 anys (RIQ: 1.4 – 10.5) enfront de 6.2 (3.3 – 12.0), $p = 0.01$). Els nens menors de 2 anys van ser més freqüentment hospitalitzats que els nens més grans. Els pacients amb malalties neurològiques o neuromusculars (OR: 3.2, IC 95%: 1.5 – 6.8), diabetis mellitus (OR: 8.8, IC 95%: 1.1 - 70.6), l'ètnia no caucàsica (OR: 2.1, IC

95%: 1.1 – 3.8), i els pares sense escolarització secundària o superior (OR: 3.2, IC 95%: 2.0 - 5.0) van ser hospitalitzats amb més freqüència. No hi varen haver diferències estadísticament significatives en les taxes de vacunació contra la grip estacional (15% en els hospitalitzats vs 14% en el que no) i la vacuna antipneumòccica heptavalent (22% en els hospitalitzats vs 24 % en els que no).

4. En l'anàlisi multivariant que avaluava com a variable sortida la necessitat d'hospitalització es van introduir com a variables independents aquelles que a l'anàlisi univariant sortiren associades a la hospitalització amb una $p < 0.1$: ser menor de 2 anys, les malalties cròniques pulmonars, neurològiques, metabòliques i cardiovasculars, l'ètnia no caucàsica i el nivell educatiu dels pares. L'edat menor de 2 anys (OR: 13.8 (IC 95%: 1.7–106.4)), tenir una malaltia prèvia neurològica o neuromuscular coneguda (OR: 3.0 (IC 95%: 1.1–8.2)), i el baix nivell educatiu dels pares (OR: 2.7 (IC 95%: 1.4–5.2)) es van mantenir associats amb un major risc d'hospitalització.

Cinquè article:

Viral coinfection in children less than 5 year-old with invasive pneumococcal disease.

Cristian Launes, Mariona F. de-Sevilla, Laura Selva, Juan J. García-García, Roman Pallarés i Carmen Muñoz-Almagro

Article publicat a
Pediatric Infectious Diseases Journal. 2012.

DOI: 10.1097/INF.0b013e31824f25b0

The Pediatric Infectious Disease Journal Publish Ahead of Print

DOI: 10.1097/INF.0b013e31824f25b0

Viral Coinfection in Children Less Than 5 Year-Old with Invasive Pneumococcal Disease

Cristian Launes, MD,* Mariona-Fernandez de-Sevilla, MD,* Laura Selva, MsC,† Juan-Jose Garcia-Garcia, MD, PhD,* Roman Pallares, MD, PhD‡ and Carmen Muñoz-Almagro, MD, PhD†

ABBREVIATED TITLE: Respiratory Virus and Pneumococcal Co-Infection

RUNNING TITLE: Virus and Pneumococcal Co-Infection

*Infectious Diseases Unit, Department of Pediatrics, Hospital Sant Joan de Deu, Universitat de Barcelona, Spain; † Department of Molecular Microbiology, Hospital Sant Joan de Deu, Universitat de Barcelona, Spain; ‡ Infectious Diseases Service, Idibell, Ciberes, Hospital Bellvitge, University of Barcelona, Barcelona, Spain.

KEY WORDS: *Streptococcus pneumoniae*; serotypes; respiratory virus; Real-Time PCR; pneumococcal disease.

CORRESPONDING AUTHOR:

Carmen Muñoz-Almagro

Molecular Microbiology Department

University Hospital Sant Joan de Deu

P^o Sant Joan de Déu, n^o 2, 08950 Esplugues, Barcelona, Spain

Phone: +34932805569, Fax: +34932803626

Mail: cma@hsjdbcn.org

TRANSPARENCY DECLARATION:

This work was supported by “Caja Navarra Foundation”, “Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca” [Grant number 2009/SGR00136], and “Fondo de Investigaciones Sanitarias [Proyecto PI10/02058]”. “Caja Navarra Foundation”, “Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca” and “Fondo de Investigaciones Sanitarias” have not influenced in the design, analysis or have any role on preparation of the manuscript.

CONFLICT OF INTEREST: The authors declare no potential conflicts of interest

ABSTRACT

Seventy-one patients < 5 year-old who were hospitalized with invasive pneumococcal disease were studied in the period 8/2008-12/2009. The purpose was to determine the proportion of episodes that were coinfecting with respiratory virus coinfection. Viral coinfection was common (44/71;62%) with rhinovirus and influenza virus being the most frequently detected. Highly invasive serotypes (1,5,7F,14,19A) were found in 31/71, of whom 15 had viral coinfection (15/31;48%). Viral detections occurred significantly more often in those episodes caused by non-highly invasive serotypes (29/40;72%), suggesting that a viral synergism could help those serotypes to make invasiveness more likely.

ACCEPTED

http://journals.lww.com/pidj/Abstract/2012/06000/Viral_Coinfection_in_Children_Less_Than_Five_Years.30.aspx

http://journals.lww.com/pidj/Abstract/2012/06000/Viral_Coinfection_in_Children_Less_Than_Five_Years.30.aspx

http://journals.lww.com/pidj/Abstract/2012/06000/Viral_Coinfection_in_Children_Less_Than_Five_Years.30.aspx

http://journals.lww.com/pidj/Abstract/2012/06000/Viral_Coinfection_in_Children_Less_Than_Five_Years.30.aspx

http://journals.lww.com/pidj/Abstract/2012/06000/Viral_Coinfection_in_Children_Less_Than_Five_Years.30.aspx

http://journals.lww.com/pidj/Abstract/2012/06000/Viral_Coinfection_in_Children_Less_Than_Five_Years.30.aspx

http://journals.lww.com/pidj/Abstract/2012/06000/Viral_Coinfection_in_Children_Less_Than_Five_Years.30.aspx

http://journals.lww.com/pidj/Abstract/2012/06000/Viral_Coinfection_in_Children_Less_Than_Five_Years.30.aspx

http://journals.lww.com/pidj/Abstract/2012/06000/Viral_Coinfection_in_Children_Less_Than_Five_Years.30.aspx

http://journals.lww.com/pidj/Abstract/2012/06000/Viral_Coinfection_in_Children_Less_Than_Five_Years.30.aspx

http://journals.lww.com/pidj/Abstract/2012/06000/Viral_Coinfection_in_Children_Less_Than_Five_Years.30.aspx

Resum del cinquè article:

L'*Streptococcus pneumoniae* forma part de la flora nasofaríngia normal dels nens, però pot produir malaltia invasiva, que es relaciona amb taxes considerables de morbiditat i mortalitat. Està ben descrit a la literatura que certs serotips i clons de pneumococ tenen una capacitat més alta per produir malaltia invasiva, mentrestant altres es detecten, predominantment com a simples colonitzants ^{149, 150}.

Molts estudis, especialment epidemiològics i basats en tècniques de serologia, han avaluat l'associació de les infeccions virals respiratòries amb la malaltia pneumocòccica invasiva, la major part d'ells abans de la introducció de la vacuna pneumocòccica heptavalent conjugada. A més a més, tampoc es coneixia si certs serotips s'associen amb més freqüència a la coinfecció viral.

Els objectius de l'estudi varen ser determinar la proporció d'episodis de malaltia pneumocòccica invasiva en els que es varen poder detectar virus respiratoris en aspirat nasofaríngi i investigar l'associació entre coinfeccions virals i determinats serotips. El període d'inclusió de pacients va ser d'agost de 2008 fins a desembre de 2009. S'incloueren consecutivament tots els menors de 5 anys ingressats a l'Hospital Sant Joan de Déu amb malaltia pneumocòccica invasiva (definida com a aïllament per cultius o detecció del genoma bacterià per PCR en qualsevol líquid normalment estèril - sang, líquid cefalorquidi, pleural i/o articular -) en els que també es recollí aspirat nasofaríngi per a la detecció de genoma viral mitjançant una real-time PCR que detecta 13 virus RNA i 1 DNA: adenovirus, coronavirus 229E, coronavirus OC43, human metapneumovirus, influenza A, influenza B, Parainfluenza 1-4, Respiratory syncytial virus A and B and rhinovirus (RealAccurate Respiratory Real-Time PCR kit, PathoFinder B.V, Maastricht, The Netherlands). L'estudi

comptava amb l'aprobació del comitè d'ètica i s'obtingué el consentiment informat de tots els pares/tutors dels pacients.

Els resultats d'aquest estudi són:

1. Resultats generals:

S'inglogueren 71 pacients. L'edat mitjana va ser de 28 mesos (rang interquartílic: 18 – 39). El diagnòstic de malaltia pneumocòccica invasiva es confirmà en 22 de 71 (31% mitjançant cultius, i a la resta, per PCR. En 31/71 (44%) es detectà un serotip característicament altament invasiu – segons la classificació de Brueggemann i Sleeman^{149, 150}. La distribució de serotips d'acord amb els inclosos a les vacunes conjugades comercialitzades va ser la següent: PCV7 (4/71; 6%), PCV10 (23/71; 32%), PCV13 (35/71; 49%).

2. Coinfecció/detecció viral:

En 44/71 (62%) es va detectar algun/s virus respiratoris. En 33 de 71 nens (46%) es detectà un sol virus, en 10/71 (14%) dos virus i en 1/71 (1%) tres virus. El rinovirus va ser el virus que es detectà amb més freqüència (23/44; 52%) seguit del virus de la grip (16/44; 36%, 8/16 varen ser per grip A(H1N1)pdm09), coronavirus (7/44; 16%), metapneumovirus (5/44, 11%), adenovirus (3/44; 7%), virus respiratori sincitial (1/44; 2%) i parainfluenza (1/44; 2%). Es mostren les variables epidemiològiques i clíniques en els pacients amb coinfecció viral i sense coinfecció viral a la taula adjunta al manuscrit. La coinfecció es va produir en 15/31 (48%) episodis causats per serotips descrits com a altament invasius. De totes maneres, es varen detectar més coinfeccions en els episodis causats per serotips sense alt potencial invasiu (29/40, 72%) (p=0.03).

DISCUSSIÓ

6. DISCUSSIÓ

6.1. Epidemiologia. L'edat com a factor de risc per a presentar malaltia greu.

Durant l'onada pandèmica es van observar en el nostre medi un alt nombre d'ingressos deguts a malaltia per grip *A(H1N1)pdm09*, tots ells concentrats en unes 6 setmanes. Aquestes xifres, així com les diferents variables a estudi, creiem que no es poden comparar amb les d'anteriors onades de grip estacional, degut a que, llavors, no es solia determinar l'etiologia infecciosa dels processos respiratoris, especialment en els nens majors de 2 anys, i si es feia, no era amb les tècniques sensibles de microbiologia molecular. De totes maneres, pel que fa a la bibliografia publicada, en la població pediàtrica, en comparació amb la grip estacional, la taxa de pacients amb malaltia greu o èxitus sembla que podria ser lleument major ^{38, 39, 70, 151, 152}.

Segons les dades publicades als Estats Units i Europa pels seus respectius Centres per al Control i la Prevenció de Malalties, les taxes més altes d'hospitalització associades a la malaltia per grip *A(H1N1)pdm09* s'assoliren en la franja dels menors de 18 anys ²². A la nostra sèrie, a l'igual que altres grups ^{28, 29, 38}, observàrem que el grup etari més important va ser el de nens en edat escolar. Això podria ser explicable donat que malgrat la taxa d'hospitalització seguia una distribució similar a la de la grip estacional (els nens de menor edat, sobretot lactants, són els que més ingressen ^{21, 22}, el nombre total d'infeccions per grip *A(H1N1)pdm09* probablement va ser més alt en el grup de nens en edat escolar (majors de 3 anys) ²¹. En aquesta línia, també el quart estudi que integra el dossier, inclòs a l'annex, descriu un major risc d'hospitalització en els nens més petits (de 6 a 24 mesos).

6.2. La comorbiditat i el risc

Pel que fa a altres variables que s'observaren associades a malaltia greu (necessitat de cures intensives o èxitus), les malalties cròniques pulmonars i neurològiques suposaren, segons la literatura, els factors de més alt risc per als pacients pediàtrics^{35, 37, 38, 39, 40, 41}; al nostre primer estudi, aquests grups també van ser els més importants, però cal subratllar que els pacients amb malalties neurològiques foren el principal grup dins dels que requeriren ingrés a la UCIP. Aquest grup de pacients amb malaltia neurològica de base presentaren també en altres sèries unes majors taxes de malaltia greu i èxitus respecte a altres comorbiditats^{43, 153}.

Tal i com es detalla al quart estudi d'aquest dossier, qualsevol malaltia de base va esdevenir també un factor de risc per a requerir hospitalització, especialment les neurològiques o neuromusculars. Aquests resultats concordaven amb els d'altres sèries pre-pandèmiques¹⁵⁴. La comorbiditat també s'havia associat a una estada mitjana més llarga¹⁵⁵.

De totes maneres és remarcable que més de la meitat dels nens no presentaven malaltia de base a l'estudi fet al nostre centre. Aquest fet s'explica pel següent: l'edat mitjana va ser més baixa en el grup de pacients sense malaltia prèvia coneguda respecte a la de la sèrie general. Així, doncs el perfil del nostre nen ingressat era el d'un nen prèviament sa d'una edat de al voltant d'uns 2 anys o bé un nen d'edat escolar amb malaltia de base. Aquesta distribució de pacients ingressats i greus (menors de 2 anys prèviament sans, nens escolars amb comorbiditat) va ser similar a l'observada en altres entorns i en onades de grip pre-pandèmiques^{43, 155}.

Finalment, aquest grup de menors de 2 anys i els nens amb comorbiditat, han estat reconeguts clarament com els nens amb major risc de requerir ingrés i presentar una pitjor evolució de la malaltia per grip *A(H1N1)pdm09* per l'Acadèmia Americana de Pediatria, i per tant l'objectiu principal de les campanyes de prevenció, tot i recomanar-se la vacunació universal, i tractament ¹⁵⁶.

6.3. La clínica i la seva variabilitat.

Respecte a la clínica, no tots els pacients van complir els criteris inicials de *malaltia compatible amb grip (ILI)* de l'OMS ⁹², que hem descrit al llarg de la introducció, fet que altres grups també van observar ^{29, 38, 90, 95, 157}. La major part d'aquests pacients, tenien símptomes respiratoris sense febre o bé eren lactants amb febre sense focus. Pensem que això s'ha de tenir en compte, entre d'altres coses, per controlar la transmissió nosocomial en els pacients ingressats amb clínica respiratòria durant les temporades d'alta prevalença de grip.

El destret respiratori i la hipoxèmia van ser el motiu principal d'ingrés als nostres estudis. L'afectació pulmonar va ser molt variable, incloent broncospasme, broncopneumònia, consolidació lobar i vessament pleural, amb o sense coinfecció evidenciada per pneumococ o VRS. Com ja hem desenvolupat al llarg de la introducció àmpliament, la variabilitat en l'expressió de malaltia pulmonar pel virus de la grip *A(H1N1)pdm09*, encara no ha estat explicada, especialment pel que fa a l'edat pediàtrica. S'observaren casos greus en nens sans d'edat escolar. Una possible resposta a aquesta incògnita podria haver estat la redistribució de soques més virulentes o una àmplia distribució de soques resistents al tractament antiviral, fet que no es va evidenciar de forma significativa durant la primera onada pandèmica ^{80, 112}. La coinfecció bacteriana, amb tota la complexitat d'interrelacions entre diversos factors que suposa la distribució diferent en medis diferents dels

microorganismes i serotips i/o amb altres virus, i diferents patrons en la resposta inflamatòria desencadenada podrien explicar gran part d'aquesta variabilitat.

6.3.1. La coinfecció bacteriana.

Encara que la gravetat de la malaltia en les pandèmies anteriors s'havia atribuït clàssicament a una sobreinfecció bacteriana, segons les primeres publicacions sobre els individus infectats per grip *A(H1N1)pdm09* en els països desenvolupats, així com també s'observà al primer estudi d'aquest dossier, semblava que, en molts casos, per a presentar malaltia greu per grip *A(H1N1)pdm09* no calia presentar coinfecció bacteriana^{38, 70, 71}. Així doncs, tot i que la sobreinfecció no fos l'element que justificava la gravetat de molts dels casos de malaltia per grip *A(H1N1)pdm09*, va ser una complicació descrita en taxes variables de fins a un 35%²² en el pacient pediàtric greu. Els microorganismes més freqüents aïllats en els estudis nord-americans incloïen l' *Streptococcus pneumoniae*, l' *Staphylococcus aureus* i l' *Streptococcus pyogenes*^{39, 40}. A la nostra sèrie l'elevació de paràmetres d'infecció-inflamació (PCR) s'associava a necessitat d'ingrés a cures intensives, malgrat la coinfecció bacteriana no s'evidenciés amb cultius o detecció del material genètic bacterià per RT-PCR de líquids normalment estèrils, com ja hem comentat, en molts d'aquests casos. Aquesta elevació de paràmetres inflamatoris en els nens amb malaltia més greu també va ser descrita per altres grups en adults^{158, 159} i, en el nostre cas, podria ser explicable per coinfeccions bacterianes no demostrades (recordem que 31/127 nens de la nostra mostra van rebre tractament antibiòtic previ a l'ingrés) o, simplement ser el reflex d'una major resposta inflamatòria en els individus més afectats.

L'índex de neutròfils en banda i els valors de la proteïna C reactiva podrien haver estat utilitzats com a biomarcadors per a seleccionar aquests pacients amb coinfecció pneumocòccica, per tal d'iniciar el tractament antibiòtic empíric o no. Una limitació per garantir completament aquesta afirmació és que un elevat nombre de pacients van rebre antibiòtics tot i no complir els criteris de pneumònia comunitària i, també n'és una limitació el fet de que un alt nombre de pacients estaven rebent antibiòtics abans de l'ingrés.

L'ús d'antibiòtics previs a l'ingrés i, probablement, els canvis en la distribució de serotips des de la introducció de la vacuna conjugada heptavalent al nostre medi potser explicarien també una part de les baixes taxes de coinfecció durant la pandèmia de grip *A(H1N1)pdm09* a la nostra sèrie. Ens crida l'atenció, també en referència al paper la sobreinfecció pneumocòccica, l'increment d'empiemes associat a la pandèmia de grip *A(H1N1)pdm09* en algunes regions (Utah i França) ^{75, 76}. Es van reclutar al nostre estudi diversos casos de pneumònia complicada en els que no es va poder demostrar coinfecció pneumocòccica tot i utilitzar les sensibles tècniques de microbiologia molecular. Hem de recordar, però, que els estudis de Utah i França es basaren en associacions epidèmiques, no en la coinfecció provada que buscarem nosaltres.

6.3.2. L'equilibri entre la resposta inflamatòria i el dany mediat directament pel virus. Valor de la càrrega viral al diagnòstic.

No existeix massa informació, en el moment de publicar aquest dossier, sobre el paper de la resposta inflamatòria en la malaltia per grip *A(H1N1)pdm09* en el pacient pediàtric; tan sols alguna descripció del patró d'activació-expressió de la cascada inflamatòria en algun dels casos greus ¹⁶⁰. La immunopatologia podria jugar un paper important en els casos de malaltia greu, tal i com s'ha observat en adults ⁶³ i en altres virus de la grip ⁴⁴, a part del dany mediat directament pel virus. Els estudis en adults que han avaluat el

paper de medicaments antiinflamatoris o immunomoduladors, presenten resultats controvertits ^{161, 162, 163}. No existeix, per tant, un clar benefici a favor del seu ús.

Independentment del paper que hi pugui jugar la resposta inflamatòria, els valors de càrrega viral també ens donen informació sobre la interacció entre l'agent infeccios i l'hoste: la càrrega viral podria ser un biomarcador de la gravetat, com s'ha descrit prèviament per altres virus respiratoris, inclòs el virus de la grip H5N1 ^{164, 165, 166}, i com també s'ha descrit amb la càrrega genòmica bacteriana en la pneumònia per pneumococ ^{167, 168}. Els valors de càrrega viral poden ser fàcilment extrapolables a partir de la mateixa en real time RT-PCR que s'utilitza per al diagnòstic de la infecció sense gairebé afegir cap cost econòmic addicional.

En el tercer estudi d'aquest dossier, els valors de càrrega viral al diagnòstic d'aquells pacients que es trobaven en els primers dies de símptomes no eren un bon biomarcador de gravetat. No obstant això, en els pacients amb 5 o més dies dels símptomes, la càrrega viral al diagnòstic va ser un paràmetre força acurat distingint els pacients que van requerir ventilació mecànica d'aquells que no la requeriren. El punt de tall de 4.5 log₁₀còpies/mL va mostrar una bona sensibilitat, el que ens fa pensar que podria haver-hi un punt de tall de càrrega viral que es podria analitzar, conjuntament amb altres variables ¹⁶⁹, per identificar els pacients que tenen un menor risc de malaltia greu. En els pacients dins dels primers dies de símptomes, la iniciació precoç d'oseltamivir podria haver-los protegit de desenvolupar una malaltia respiratòria més greu i, probablement, això pot ser una de les raons per no trobar els valors de càrrega viral al diagnòstic com un paràmetre precís en distingir els casos més greus en aquest grup. D'altra banda, el tractament ha demostrat ser eficaç en fer disminuir de la càrrega viral ⁸³, el que suggereix que aquells pacients que encara tenien altes càrregues virals tot i haver passat diversos dies des de l'inici dels símptomes es podrien haver beneficiat d'un tractament anterior precoç.

De forma similar a com es descrigué en els adults amb els virus de la grip pre-pandèmics i també el virus *A(H1N1)pdm09*^{82, 170}, els valors de càrrega viral es van mantenir alts en aquells pacients en què la mostra va ser recollida durant els primers dies de símptomes. Altres grups han descrit càrregues virals més altes en els pacients amb condensacions pulmonars i amb febre^{82, 84} en comparació amb els pacients sense símptomes sistèmics. *Li et al.* van observar un menor aclariment de la càrrega viral en pacients menors de 13 anys d'edat⁸⁴ en comparació als adults, però no van trobar-hi una major taxa de malaltia greu, que definiren com tenir opacitats a la radiografia de tòrax o meningoencefalitis. En el nostre estudi, tenir un valor de càrrega viral alt, havent passat cinc o més dies de símptomes conferí un augment significatiu en el risc de requerir ventilació mecànica. Aquest resultat podria estar en relació amb el *clearance* més baix de càrrega viral observat en pacients amb malaltia més greu en altres sèries^{82, 85, 171}, tot i que en el nostre estudi no es varen fer determinacions seriades per a comprovar-ho.

Al igual que en altres descripcions^{82, 83}, es va trobar una correlació inversa entre la càrrega viral i la xifra de limfòcits, ens els pacients que es trobaven en els primers dies de clínica. Aquesta troballa podria estar en relació amb una modulació de la immunitat causada directament pel nou virus¹⁷², o ser simplement el reflex d'un mal control de la càrrega viral en els pacients amb menors xifres de limfòcits. La limfopènia és un dels factors de risc descrits per a desenvolupar malaltia greu per grip *A(H1N1)pdm09*¹⁶⁹.

6.4. Les manifestacions extrapulmonars i els casos greus

Respecte a les manifestacions extrapulmonars, aquestes aparegueren també al nostre primer i segon estudi, i algunes d'elles van ser greus en nens prèviament sans. Malgrat ja es coneixien les manifestacions extrapulmonars

ocasionades pels virus de la grip pre-pandèmics, ens agradaria subratllar el nombre de casos amb manifestacions cardíaques a la nostra sèrie i que al llarg de la temporada pandèmica també van publicar altres grups ^{95, 173}. Quadres d'encefalopatia, que cursaven amb alteració lleu de la consciència o alteracions del comportament autolimitades, i l'exacerbació de malalties cròniques subjacents són altres complicacions que es van trobar i que també han estat descrites per altres grups ^{38, 39, 94, 147, 174}. Així doncs, creiem necessari continuar fent els tests diagnòstics pertinents per al diagnòstic d'infecció de grip *A(H1N1)pdm09* durant les temporades d'alta prevalença en nens amb símptomes neurològics i cardíacs, especialment si són inexplicables per altres causes.

La mortalitat no va estar absent i molts pacients van requerir ingrés a la UCIP. Respecte als tractaments aplicats a la UCIP, volem remarcar que la ventilació no invasiva amb dispositius de dos nivells de pressió positiva de via aèria va ser eficaç per a la majoria dels casos greus respiratoris. La informació que trobem a la literatura sobre l'efectivitat d'aquest tractament de suport és controvertida, amb estudis amb altes taxes d'èxits ¹⁷⁵, i d'altres amb fracassos ^{70, 157}. La diversitat en el tipus de pacients inclosos i protocols fa difícil extreure'n conclusions, però segons la nostra experiència, l'ús precoç d'aquest suport, i conèixer-ne les seves limitacions d'ús i indicacions és cabdal per tal d'avaluar-ho com una opció viable de tractament. Tanmateix n'és molt important reconèixer els marcadors precoços de fracàs del tractament ¹⁷⁶ per tal de no influir negativament en el pronòstic del pacient. La ventilació no invasiva s'utilitza al nostre centre seguint les recomanacions de la Societat Espanyola de Cures Intensives Pediàtriques ¹⁷⁷.

6.5. El tractament antiviral i beneficis del seu ús precoç

Al nostre centre, el tractament amb oseltamivir s'iniciava a la major part dels pacients tan aviat com es sospitava la malaltia, sense esperar el resultat

de la real-time RT-PCR. Això fa que la nostra sèrie sigui, respecte a les publicades, una de les que té un índex més alt de pacients tractats de forma precoç. Donat que la major part dels pacients va rebre antivirals, no es pot descriure l'evolució sense tractament. No obstant això, en els pacients que van requerir ingrés a UCIP observarem un major temps d'evolució de la malaltia abans d'iniciar el tractament amb oseltamivir. Aquesta troballa lliga també amb el fet de trobar càrregues virals altes en els pacients greus que portaven diversos dies de clínica, en els que podríem pensar que el tractament precoç hagués pogut ajudar-los a controlar aquesta càrrega viral, tal i com s'ha demostrat en altres estudis⁸³, i reduir conseqüentment el risc de desenvolupar una malaltia greu. Altres grups han suggerit el mateix efecte beneficiós en l'ús precoç de l'oseltamivir en malaltia per grip *A(H1N1)pdm09*^{33, 178}.

El tractament s'administrà durant un període de 5 dies en gairebé tots els nostres pacients, seguint les recomanacions i les dosis de l' Agència Europea dels Medicaments. En alguns dels nens greument immunocompromesos per tractament amb quimioteràpics es van realitzar real-time RT-PCR per a grip *A(H1N1)pdm09* seriades i el tractament només es va suspendre un cop confirmada la negativitat de la RT-PCR (entre 7 i 15 dies). Es va decidir prolongar el tractament en aquests nens degut a que es va documentar replicació viral prolongada en pacients immunocompromesos, amb posterior aparició de resistència als fàrmacs inhibidors de la neuroaminidasa³⁰. Com que no es van detectar efectes adversos al tractament, podem dir que l'oseltamivir va ser un medicament segur per als nostres pacients.

6.6. La grip en els pacients amb leucèmia limfàtica aguda

La major part dels pacients inclosos a la nostra segona sèrie, de nens amb LLA, no van desenvolupar malaltia greu. Els nens en tractament de manteniment, amb dosis baixes de quimioteràpics i una immunosupressió més lleu, sense neutropènia, van presentar una clínica respiratòria lleu amb el

tractament antiviral, suggerint que el seguiment d'aquests nens es podria fer de forma ambulatoria. El grau d'immunosupressió va esdevenir un factor associat a la gravetat de la malaltia a la nostra sèrie. A més de la neutropènia, l'alteració de la immunitat cel·lular per la pròpia leucèmia i secundària al tractament quimioteràpic ¹⁷⁹, podria haver condicionat aquesta pitjor evolució en els nens en fases de tractament més intensiu. Altres sèries posteriors a la publicació d'aquesta també han tingut troballes similars ^{180, 181, 182}. Aquesta troballa concorda amb el que ja s'ha esmentat al llarg de la introducció en referència a altres virus respiratoris ^{139, 140}: la neutropènia i la limfopènia són marcadors de risc per a desenvolupat una malaltia greu pels virus de la grip. Cal recordar, a més a més, que en un dels dos nens greus del nostre segon estudi va haver-hi un retard en l'inici de l'antiviral; fet que també podria explicar una pitjor evolució en aquest cas.

Cap dels pacients inclosos havia rebut la vacunació enfront la grip *A(H1N1)pdm09*, ja que la major part dels casos van ser diagnosticats abans de la comercialització de la vacuna al nostre estat. Un dels estudis més amplis fets posteriors a la publicació de la nostra sèrie, mostraren que menys d'un 40% de nens en tractament per LLA aconseguiren títols protectors després de la vacunació contra el virus de la grip *A(H1N1)pdm09*; la proporció de pacients que respongueren adequadament amb neoplàsies hematològiques, en comparació a la de pacients amb neoplàsies d'òrgans sòlids, fou menor ¹⁸³. Així doncs, sembla important continuar estudiant quina és la millor forma de protegir aquesta població de risc, com podria ser amb la vacunació universal dels principals transmissors de grip: els nens. També cal continuar en la recerca en el camp de la vacunologia, per trobar una vacuna més immunògena útil per aquests pacients, i també en el camp terapèutic per tal de poder utilitzar alternatives a l'oseltamivir per al tractament antiviral, i més quan, tal i com s'ha observat ¹⁸⁴, és molt probable a l'època postpandèmica un increment progressiu en el percentatge de resistències a aquest antiviral en les poblacions de risc.

Acabem remarquant que, independentment de la morbiditat i mortalitat directa causada per la malaltia per grip, en alguns nens amb leucèmia aquesta infecció pot interrompre, retardar o modificar cicles del seu tractament quimioteràpic ¹⁸⁵.

6.7. Limitacions

Les principals limitacions dels estudis inclosos en aquest dossier són: tot i incloure un nombre de pacients considerable, representen l'experiència d'un sol centre i de tercer nivell (a excepció de l'estudi inclòs en l'annex) amb el que pot existir un biaix de selecció de pacients (més amb malaltia més greu i més comorbiditat); i són estudis observacionals. Respecte a l'estudi de la càrrega viral, la principal limitació és el baix nombre de casos inclosos amb malaltia greu. També seria interessant determinar la utilitat clínica d'anàlisis seriatos de càrrega viral en un mateix pacient, tant per avaluar-ne la corba evolutiva com a biomarcador de gravetat, com per a monitoritzar la resposta al tractament.

6.8. Comentaris

Per acabar, volem remarcar les baixes xifres de vacunació per a grip estacional trobades en grups de risc al quart estudi, els menors de 2 anys i molt especialment el nen amb comorbiditat, tot i ser una vacuna recomanada en aquest darrer grup i administrada gratuïtament al nostre entorn. Tal i com s'ha desenvolupat al llarg d'aquest dossier, aquests grups tingueren un major risc d'hospitalització, tant els pre-escolars com els nens amb comorbiditat, i també un major risc per a presentar una malaltia greu, en el cas de les comorbiditats, especialment les neurològiques. També sembla, doncs, important centrar l'atenció en aquestes poblacions, tal i com recomana l'Acadèmia Americana de Pediatria ¹⁵⁶, per tal d'iniciar el tractament precoçment, per a controlar millor la

càrrega viral, i que s'ha mostrat efectiu en minvar el nombre de complicacions. D'altra banda, els nens amb LLA en tractaments quimioteràpics més intensius són els que tenen un major risc de complicacions i han de ser vigilats estretament en temporades d'alta prevalença de grip per tal d'iniciar, també, el tractament de forma precoç.

Finalment, les troballes del cinquè estudi que integra el dossier apunten a que els serotips de pneumococ colonitzadors podrien ser els que més episodis de malaltia pneumocòccica invasiva causen quan es presenta una coinfecció viral. Caldria avaluar específicament en el cas del virus de la grip si l'expressió clínica de la coinfecció pneumocòccica pot ser que hagi canviat amb el recanvi de serotips observat al nostre medi.

CONCLUSIONS

7. CONCLUSIONS

1. El perfil del nen ingressat amb malaltia per grip *A(H1N1)pdm09* va ser el d'un nen prèviament sa preescolar o bé el d'un nen d'edat escolar amb malaltia de base.
2. Les malalties cròniques pulmonars i neurològiques varen ser els grups més importants de pacients que tenien malaltia de base i que requeriren ingrés. D'entre ells, els pacients amb malalties neurològiques suposaren el principal grup de nens amb malalties cròniques d'entre els què requeriren ingrés a la UCIP.
3. No tots els pacients compliren els criteris inicials de malaltia compatible amb grip (*influenza-like illness*) de l'OMS.
4. El destret respiratori i la hipoxèmia van ser el motiu principal d'ingrés.
5. Un 10% presentaven malaltia invasiva pneumocòccica. L'índex de neutròfils en banda i els valors de la proteïna C-reactiva (PCR) poden tenir utilitat per tal de seleccionar els pacients amb coinfecció pneumocòccica per tal d'iniciar el tractament antibiòtic empíric o no.
6. Hi va haver casos de grip *A(H1N1)pdm09* amb manifestacions extrapulmonars, i algunes d'elles van ser greus en nens prèviament sans. Destacaren les manifestacions cardíques i neurològiques, en forma d'alteracions lleus de la consciència o encefalopatia aguda autolimitada en 24-48 hores.
7. La mortalitat no va estar absent i molts pacients van requerir ingrés a la UCIP. La complicació principal va ser la insuficiència

respiratòria. L'elevació dels paràmetres inflamatoris (PCR) s'associaren a pacients d'alt risc que requeriren ingrés a la UCIP.

8. La ventilació no invasiva amb dispositius de dos nivells de pressió positiva de via aèria va ser eficaç per a la majoria dels casos greus respiratoris.
9. En els pacients que van requerir ingrés a UCIP trobàrem un major temps d'evolució de la malaltia abans d'iniciar el tractament amb oseltamivir.
10. Com que no es van detectar efectes adversos a l'oseltamivir, podem dir que va resultar un medicament segur per als pacients.
11. Els nens amb leucèmia limfàtica aguda en fases de tractament més intensiu presentaren una malaltia per grip més greu. Els nens en tractament de manteniment no presentaren cap complicació.
12. Els valors de càrrega viral al diagnòstic es correlacionaren negativament amb el temps de durada de la clínica al moment de fer la recollida de la mostra.
13. Tenir una càrrega viral alta havent passat 5 o més dies des de l'inici de la clínica es va relacionar amb un major risc de malaltia greu per grip A(H1N1)pdm09 (necessitat de suport amb ventilació mecànica invasiva o no invasiva).

BIBLIOGRAFIA

8. BIBLIOGRAFIA

1. Dawood FS, Jain S, Finelli L, Shaw MW, Lindstrom S, Garten RJ, et al. *Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans*. N Engl J Med. **2009**; 360: 2605-2615.
2. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Swine Influenza A (H1N1) Infection in Two Children --- Southern California, March--April 2009*. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. **2009**; 58: 400-402.
3. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Update: swine influenza A (H1N1) infections—California and Texas, April 2009*. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. **2009**; 58: 435-437.
4. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Update: novel influenza A (H1N1) virus infection—Mexico, March-May, 2009*. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. **2009**; 58: 585-589.
5. World Health Organization. *Pandemic influenza preparedness and response WHO guidance document*. **2009**, disponible a [http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241547680_eng.pdf], consultat el 10 de novembre de 2009.
6. Kaiser J. *A one-size-fits-all flu vaccine*. Science. **2006**; 312: 380-382.
7. Belshe RB, Smith MH, Hall CB, Betts R, Hay AJ. *Genetic basis of resistance to rimantadine emerging during treatment of influenza virus infection*. J Virol. **1988**; 62: 1508-1512.
8. Webster RG, Kendal AP, Gerhard W. *Analysis of antigenic drift in recently isolated influenza A (H1N1) viruses using monoclonal antibody preparations*. Virology. **1979**; 96: 258-264.

9. Webster RG, Wright SM, Castrucci MR, Bean WJ, Kawaoka Y. *Influenza--a model of an emerging virus disease*. Intervirology. **1993**; 35: 16-25.
10. Smith GJ, Vijaykrishna D, Bahl J, Lycett SJ, Worobey M, Pybus OG, et al. *Origins and evolutionary genomics of the 2009 swine-origin H1N1 influenza A epidemic*. Nature. **2009**; 459: 1122-1125.
11. Enserink M. *Swine flue outbreak. Swine flu names evolving faster than swine flu itself*. Science. **2009**; 324: 871.
12. World Health Organization. *Standardization of terminology of the pandemic A(H1N1)2009 virus*. **2011**, disponible a [http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/terminology_ah1n1pdm09/en/index.html],], consultat el 13 de març de 2012.
13. Glezen WP, Couch RB. *Interpandemic influenza in the Houston area, 1974-76*. N Engl J Med. **1978**; 298: 587-592.
14. Xu X, Smith CB, Mungall BA, Lindstrom SE, Hall HE, Subbarao K, et al. *Intercontinental circulation of human influenza A(H1N2) reassortant viruses during the 2001-2002 influenza season*. J Infect Dis. **2002**; 186: 1490-1493.
15. Fry AM, Shay DK, Holman RC, Curns AT, Anderson LJ. *Trends in hospitalizations for pneumonia among persons aged 65 years or older in the United States, 1988-2002*. JAMA. **2005**; 294: 2712-2719.
16. Miller E, Hoschler K, Hardelid P, Stanford E, Andrews N, Zambon M. *Incidence of 2009 pandemic influenza A H1N1 infection in England: a cross-sectional serological study*. Lancet. **2010**; 375:1100-1108.
17. Tsai TF, Pedotti P, Hilbert A, Lindert K, Hohenboken M, Borkowski A, et al. *Regional and age-specific patterns of pandemic H1N1 influenza virus seroprevalence inferred from vaccine clinical trials, August-October 2009*. Euro Surveill. **2010**;15:pii=19624.

18. Howard WA, Peiris M, Hayden FG. *Report of the 'Mechanisms of lung injury and immunomodulator interventions in influenza' workshop, 21 March 2010, Ventura, California, USA*. Influenza Other Respi Viruses. **2011**. [Publicació electrònica] doi: 10.1111/j.1750-2659.2011.00278.x.
19. Butler D. *Portrait of a year-old pandemic*. Nature. **2010**; 464:1112-1113.
20. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Serum crossreactive antibody response to a novel influenza A (H1N1) virus after vaccination with seasonal influenza vaccine*. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. **2009**; 58: 521-524.
21. Subdirecció General de Vigilància i Resposta a Emergències en Salut Pública. Generalitat de Catalunya. Departament de Salut. *Pla d'informació de les infeccions respiratòries agudes a Catalunya. Temporada gripal 2009-2010. Full informatiu núm.33. 2010*, disponible a [http://www.gencat.cat/salut/depsalut/html/ca/dir3157/pidirac_2009_10.pdf], consultat l'11 de gener, 2010.
22. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Weekly influenza surveillance report: 2009–2010 Influenza Season Week 20 ending May 22, 2010*. **2010**, disponible a [<http://www.cdc.gov/flu/weekly/weeklyarchives2009-2010/weekly20.htm>], consultat el 2 de juny, 2011.
23. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Interim guidance on infection control measures for 2009 h1n1 influenza in healthcare settings, including protection of healthcare personnel*. **2009**, disponible a [http://www.cdc.gov/h1n1flu/guidelines_infection_control.htm], consultat el 19 d'octubre, 2009.
24. Yoo SJ, Moon SJ, Kuak EY, Yoo HM, Kim CK, Chey MJ, et al. *Frequent detection of pandemic (H1N1) 2009 virus in stools of hospitalized patients*. J Clin Microbiol. **2010**; 48: 2314-2315.

25. Fabian P, McDevitt JJ, DeHaan WH, Fung RO, Cowling BJ, Chan KH, et al. Influenza virus in human exhaled breath: an observational study. *PLoS ONE*. **2008**; 3: e2691.
26. Temte JL. *Basic rules of influenza: how to combat the H1N1 influenza (swine flu) virus*. *Am Fam Physician*. **2009**; 79: 938-939.
27. Lye DC, Chow A, Tan A. *Oseltamivir therapy and viral shedding in pandemic (H1N1) 2009*. 49th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, California, September 12-15, 2009. **2009**. [Abstract V-1269c]
28. Larcombe PJ, Moloney SE, Schmidt PA. *Pandemic (H1N1) 2009: A clinical spectrum in the general paediatric population*. *Arch Dis Child*. **2011**; 96: 96-98.
29. Hackett S, Hill L, Patel J, Ratnaraja N, Ifeyinwa A, Farooqi M, et al. *Clinical characteristics of paediatric H1N1 admissions in Birmingham, UK*. *Lancet*. **2009**; 374:605.
30. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Oseltamivir-resistant novel influenza A (H1N1) virus infection in two immunosuppressed patients – Seattle, Washington, 2009*. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. **2009**; 58: 893-896.
31. World Health Organization. *Clinical management of human infection with pandemic (H1N1) 2009: revised guidance*. **2009**, disponible a [http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/clinical_management_h1n1.pdf], consultat l'11 de novembre, 2009.
32. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Hospitalized patients with novel influenza A (H1N1) virus infection - California, April-May, 2009*. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. **2009**; 58: 536-541.

33. Jain S, Kamimoto L, Bramley AM, Schmitz AM, Benoit SR, Louie J, et al. *Hospitalized patients with 2009 H1N1 influenza in the United States, April-June 2009*. N Engl J Med. **2009**; 361: 1935-1944.
34. Louie JK, Acosta M, Winter K, Jean C, Gavali S, Schechter R, et al. *Factors associated with death or hospitalization due to pandemic 2009 influenza A(H1N1) infection in California*. JAMA. **2009**; 302: 1896-1902.
35. Vaillant L, La Ruche G, Tarantola A, Barboza P. *Epidemiology of fatal cases associated with pandemic H1N1 influenza 2009*. Euro Surveill. **2009**; 14:pii=19309.
36. Webb SA, Pettilä V, Seppelt I, Bellomo R, Bailey M, Cooper DJ, et al. *Critical care services and 2009 H1N1 influenza in Australia and New Zealand*. N Engl J Med. **2009**; 361: 1925-1934.
37. Lister P, Reynolds F, Parslow R, Chan A, Cooper M, Plunkett A, et al. *Swine-origin influenza virus H1N1, seasonal influenza virus, and critical illness in children*. Lancet. **2009**; 374: 605-607.
38. Libster R, Bugna J, Coviello S, Hijano DR, Dunaiewsky M, Reynoso N, et al. *Pediatric hospitalizations associated with 2009 pandemic influenza A (H1N1) in Argentina*. N Engl J Med. **2010**; 362: 45-55.
39. O'Riordan S, Barton M, Yau Y, Read SE, Allen U, Tran D. *Risk factors and outcomes among children admitted to hospital with pandemic H1N1 influenza*. CMAJ. **2010**; 182: 39-44.
40. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Surveillance for pediatric deaths associated with 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus infection - United States, April-August 2009*. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. **2009**; 58: 941-947.

41. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Patients hospitalized with 2009 pandemic influenza A (H1N1) - New York City, May 2009*. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. **2010**; 58: 1436-1440.
42. Farias JA, Fernández A, Monteverde E, Vidal N, Arias P, Montes MJ, et al. *Critically ill infants and children with influenza A (H1N1) in pediatric intensive care units in Argentina*. Intensive Care Med. **2010**; 36: 1015-1022
43. Sachedina N, Donaldson LJ. *Paediatric mortality related to pandemic influenza A H1N1 infection in England: an observational population-based study*. Lancet. **2010**; 376: 1846-1852.
44. Tregoning JS, Schwarze J. *Respiratory viral infections in infants: causes, clinical symptoms, virology, and immunology*. Clin Microbiol Rev. **2010**; 23: 74-98.
45. Rogers GN, Paulson JC. *Receptor determinants of human and animal influenza virus isolates: differences in receptor specificity of the H3 hemagglutinin based on species of origin*. Virology. **1983**; 127: 361-373.
46. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6th ed. Philadelphia, Estats Units: Elsevier Churchill Livingstone; **2005**.
47. Hinshaw VS, Olsen CW, Dybdahl-Sissoko N, Evans D. *Apoptosis: a mechanism of cell killing by influenza A and B viruses*. J Virol. **1994**; 68: 3667-3673.
48. Takizawa T, Matsukawa S, Higuchi Y, Nakamura S, Nakanishi Y, Fukuda R. *Induction of programmed cell death (apoptosis) by influenza virus infection in tissue culture cells*. J Gen Virol. **1993**; 74: 2347-2355.
49. Noble RL, Lillington GA, Kempson RL. *Fatal diffuse influenzal pneumonia: premortem diagnosis by lung biopsy*. Chest. **1973**; 63: 644-646.

50. Soto-Abraham MV, Soriano-Rosas J, Díaz-Quiñónez A, Silva-Pereyra J, Vazquez-Hernandez P, Torres-López O, et al. *Pathological changes associated with the 2009 H1N1 virus*. N Engl J Med. **2009**; 361: 2001-2003.

51. Shieh WJ, Blau DM, Denison AM, Deleon-Carnes M, Adem P, Bhatnagar J, et al. *2009 pandemic influenza A (H1N1): pathology and pathogenesis of 100 fatal cases in the United States*. Am J Pathol. **2010**; 177: 166–175.

52. Zhang J, Zhang Z, Fan X, Liu Y, Wang J, Zheng Z, et al. *2009 pandemic H1N1 influenza virus replicates in human lung tissues*. J Infect Dis. **2010**; 201: 1522-1526.

53. Chan MC, Chan RW, Yu WC, Ho CC, Yuen KM, Fong JH, et al. *Tropism and innate host responses of the 2009 pandemic H1N1 influenza virus in ex vivo and in vitro cultures of human conjunctiva and respiratory tract*. Am J Pathol. **2010**; 176: 1828-1840.

54. Itoh Y, Shinya K, Kiso M, Watanabe T, Sakoda Y, Hatta M, et al. *In vitro and in vivo characterization of new swine-origin H1N1 influenza viruses*. Nature. **2009**; 460: 1021–1025.

55. Pang IK, Iwasaki A. *Inflammasomes as mediators of immunity against influenza virus*. Trends Immunol. **2011**; 32: 34-41.

56. Guillot L, Le Goffic R, Bloch S, Escriou N, Akira S, Chignard M, et al. *Involvement of toll-like receptor 3 in the immune response of lung epithelial cells to double-stranded RNA and influenza A virus*. J Biol Chem. **2005**; 280: 5571-5580.

57. Le Goffic R, Balloy V, Lagranderie M, Alexopoulou L, Escriou N, Flavell R, et al. *Detrimental contribution of the Toll-like receptor (TLR)3 to influenza A virus-induced acute pneumonia*. PLoS Pathog. **2006**; 2: e53.

58. Lund JM, Alexopoulou L, Sato A, Karow M, Adams NC, Gale NW, et al. *Recognition of single-stranded RNA viruses by Toll-like receptor 7*. Proc Natl Acad Sci U S A. **2004**;101:5598-5603.
59. Pichlmair A, Schulz O, Tan CP, Näslund TI, Liljeström P, Weber F, et al. *RIG-I-mediated antiviral responses to single-stranded RNA bearing 5'-phosphates*. Science. **2006**; 314:997-1001.
60. Thomas PG, Dash P, Aldridge JR Jr, Ellebedy AH, Reynolds C, Funk AJ, et al. *The intracellular sensor NLRP3 mediates key innate and healing responses to influenza A virus via the regulation of caspase-1*. Immunity. **2009**; 30: 566-575.
61. Allen IC, Scull MA, Moore CB, Holl EK, McElvania-TeKippe E, Taxman DJ, et al. *The NLRP3 inflammasome mediates in vivo innate immunity to influenza A virus through recognition of viral RNA*. Immunity. **2009**; 30: 556-565.
62. Lin D, Lan J, Zhang Z. *Structure and function of the NS1 protein of influenza A virus*. Acta Biochim Biophys Sin. **2007**; 39: 155-162.
63. Bermejo-Martin JF, Ortiz de Lejarazu R, Pumarola T, Rello J, Almansa R, Ramírez P, et al. *Th1 and Th17 hypercytokinemia as early host response signature in severe pandemic influenza*. Crit Care. **2009**; 13: R201.
64. Arankalle VA, Lole KS, Arya RP, Tripathy AS, Ramdasi AY, Chadha MS, et al. *Role of host immune response and viral load in the differential outcome of pandemic H1N1 (2009) influenza virus infection in Indian patients*. PLoS One. **2010**; 5:pii=e13099.
65. Agrati C, Gioia C, Lalle E, Cimini E, Castilletti C, Armignacco O, et al. *Association of profoundly impaired immune competence in H1N1v-infected patients with a severe or fatal clinical course*. J Infect Dis. **2010**; 202: 681-689.

66. Skowronski DM, Hottes TS, McElhaney JE, Janjua NZ, Sabaiduc S, Chan T, et al. *Immuno-epidemiologic correlates of pandemic H1N1 surveillance observations: higher antibody and lower cell-mediated immune responses with advanced age.* J Infect Dis. **2011**; 203: 158-167.
67. Nicholls JM, Peiris JS. *Avian influenza: update on pathogenesis and laboratory diagnosis.* Respirology. **2008**; 13(Suppl 1):14-18.
68. 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**; 198: 962–970.
69. Taubenberger JK, Morens DM. *The pathology of influenza virus infections.* Annu Rev Pathol. **2008**; 3: 499–522.
70. Kumar A, Zarychanski R, Pinto R, Cook DJ, Marshall J, Lacroix J, et al. *Critically ill patients with 2009 influenza A(H1N1) infection in Canada.* JAMA. **2009**; 302: 1872-1879.
71. Perez-Padilla R, de la Rosa-Zamboni D, Ponce de Leon S, Hernandez M, Quinones-Falconi F, et al. *Pneumonia and respiratory failure from swine origin influenza A (H1N1) in Mexico.* N Engl J Med. **2009**; 361: 680–689.
72. Palacios G, Hornig M, Cisterna D, Savji N, Bussetti AV, Kapoor V, et al. *Streptococcus pneumoniae coinfection is correlated with the severity of H1N1 pandemic influenza.* PLoS One. **2009**; 4: e8540.
73. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Bacterial coinfections in lung tissue specimens from fatal cases of 2009 pandemic influenza A (H1N1) - United States, May-August 2009.* MMWR Morb Mortal Wkly Rep. **2009**; 58: 1071-1074.

74. Mauad T, Hajjar LA, Callegari GD, da Silva LF, Schout D, Galas FR, et al. *Lung pathology in fatal novel human influenza A (H1N1) infection*. Am J Respir Crit Care Med. **2010**; 181: 72-79.
75. Ampofo K, Herbener A, Blaschke AJ, Heyrend C, Poritz M, Korgenski K, et al. *Association of 2009 pandemic influenza A (H1N1) infection and increased hospitalization with parapneumonic empyema in children in Utah*. Pediatr Infect Dis J. **2010**; 29: 905-909.
76. See H, Blondé R, Mariani P, Tacquet M, Dumitrescu M, Angoulvant F, et al. *Increased incidence of parapneumonic empyema in children at a french pediatric tertiary care center during the 2009 influenza A (H1N1) virus pandemic*. Pediatr Infect Dis J. **2010**; 29: 786-787.
77. Wright PF, Kirkland KB, Modlin JF. *When to consider the use of antibiotics in the treatment of 2009 H1N1 influenza-associated pneumonia*. N Engl J Med. **2009**; 361: e112.
78. Baccam P, Beauchemin C, Macken CA, Hayden FG, Perelson AS. *Kinetics of influenza A virus infection in humans*. J Virol. **2006**; 80: 7590–7599.
79. Abe Y, Takashita E, Sugawara K, Matsuzaki Y, Muraki Y, Hongo S. *Effect of the addition of oligosaccharides on the biological activities and antigenicity of influenza A/H3N2 virus hemagglutinin*. J Virol. **2004**; 78: 9605-9611.
80. Liu Y, Childs RA, Matrosovich T, Wharton S, Palma AS, Chai W, et al. *Altered receptor specificity and cell tropism of D222G hemagglutinin mutants isolated from fatal cases of pandemic A(H1N1) 2009 influenza virus*. J Virol. **2010**; 84: 12069-12074.
81. Duchamp MB, Casalegno JS, Gillet Y, Frobert E, Bernard E, Escuret V, et al. *Pandemic A(H1N1)2009 influenza virus detection by real time RT-PCR: is viral quantification useful?* Clin Microbiol Infect. **2010**; 16: 317-321.

82. To KK, Hung IF, Li IW, Lee KL, Koo CK, Yan WW, et al. *Delayed clearance of viral load and marked cytokine activation in severe cases of pandemic H1N1 2009 influenza virus infection*. Clin Infect Dis. **2010**; 50: 850-859.
83. Li IW, Hung IF, To KK, Chan KH, Wong SS, Chan JF, et al. *The natural viral load profile of patients with pandemic 2009 influenza A(H1N1) and the effect of oseltamivir treatment*. Chest. **2010**; 137: 759-768.
84. Li C-C, Wang L, Eng H-W, You HL, Chang LS, Tang KS, et al. *Correlation of pandemic (H1N1) 2009 viral load with disease severity and prolonged viral shedding in children*. Emerg Infect Dis. **2010**; 16: 1265-1272.
85. Giannella M, Alonso M, Viedma DG, Roa PL, Catalán P, Padilla B, et al. *Prolonged viral shedding in pandemic influenza A(H1N1): clinical significance and viral load analysis in hospitalized patients*. Clin Microbiol Infect. **2011**; 17: 1160-1165.
86. Silvennoinen H, Peltola V, Lehtinen P, Vainionpää R, Heikkinen T. *Clinical presentation of influenza in unselected children treated as outpatients*. Pediatr Infect Dis J. **2009**; 28: 372-375.
87. Poehling KA, Edwards KM, Weinberg GA, Szilagyi P, Staat MA, Iwane MK, et al. *The underrecognized burden of influenza in young children*. N Engl J Med. **2006**; 355: 31-40.
88. Miller EK, Griffin MR, Edwards KM, Weinberg GA, Szilagyi PG, Staat MA. *Influenza burden for children with asthma*. Pediatrics. **2008**; 121: 1-8.
89. Gamboa ET, Eastwood AB, Hays AP, Maxwell J, Penn AS. *Neurology. Isolation of influenza virus from muscle in myoglobinuric polymyositis*. **1979**; 29: 1323-1335.

90. Newland JG, Laurich VM, Rosenquist AW, Heydon K, Licht DJ, Keren R, et al. *Neurologic complications in children hospitalized with influenza: characteristics, incidence, and risk factors*. J Pediatr. **2007**; 150: 306-310.
91. Hjalmarsson A, Blomqvist P, Brytting M, Linde A, Sköldenberg B. *Encephalitis after influenza in Sweden 1987-1998: a rare complication of a common infection*. Eur Neurol. **2009**; 61:289-294.
92. World Health Organization. *Human Infection With Pandemic (H1n1) 2009 Virus: Updated Interim WHO Guidance on Global Surveillance*. **2009**, disponible a
a
[http://www.who.int/csr/disease/swineflu/guidance/surveillance/WHO_case_definition_swine_flu_2009_04_29.pdf], consultat el 14 d'abril, 2010.
93. Gilsdorf A, Poggensee G. *Influenza A(H1N1)v in Germany: the first 10,000 cases*. Euro Surveill. **2009**; 14: pii=19318.
94. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Neurologic complications associated with novel influenza A (H1N1) virus infection in children - Dallas, Texas, May 2009*. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. **2009**; 58: 773-778.
95. Bratincsák A, El-Said HG, Bradley JS, Shayan K, Grossfeld PD, Cannavino CR. *Fulminant myocarditis associated with pandemic H1N1 influenza A virus in children*. J Am Coll Cardiol. **2010**; 55: 928-929.
96. Peltola V, Reunanen T, Ziegler T, Silvennoinen H, Heikkinen T. *Accuracy of clinical diagnosis of influenza in outpatient children*. Clin Infect Dis. **2005**;41:1198-200.
97. Babcock HM, Merz LR, Dubberke ER, Fraser VJ. *Case-control study of clinical features of influenza in hospitalized patients*. Infect Control Hosp Epidemiol. **2008**; 29: 921-926.

98. Ohmit SE, Monto AS. *Symptomatic predictors of influenza virus positivity in children during the influenza season*. Clin Infect Dis. **2006**; 43: 564-568.
99. Harper SA, Bradley JS, Englund JA, File TM, Gravenstein S, Hayden FG, et al. *Seasonal influenza in adults and children-diagnosis, treatment, chemoprophylaxis, and institutional outbreak management: clinical practice guidelines of the Infectious Diseases Society of America*. Clin Infect Dis. **2009**; 48: 1003-1032.
100. Fiore AE, Fry A, Shay D, Gubareva L, Bresee JS, Uyeki TM. *Antiviral agents for the treatment and chemoprophylaxis of influenza --- recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP)*. MMWR Recomm Rep. **2011**; 60:1-24.
101. Ruest A, Michaud S, Deslandes S, Frost EH. *Comparison of the Directigen flu A+B test, the QuickVue influenza test, and clinical case definition to viral culture and reverse transcription-PCR for rapid diagnosis of influenza virus infection*. J Clin Microbiol. **2003**; 41: 3487-3493.
102. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Evaluation of rapid influenza diagnostic tests for detection of novel influenza A (H1N1) Virus - United States, 2009*. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. **2009**; 58: 826-829.
103. Hawkes M, Richardson SE, Ipp M, Schuh S, Adachi D, Tran D. *Sensitivity of rapid influenza diagnostic testing for swine-origin 2009 a (H1N1) influenza virus in children*. Pediatrics. **2010**; 125: 639-644.
104. World Health Organization. *WHO information for laboratory diagnosis of pandemic (H1N1) 2009 virus in humans - revised*. **2009**, disponible a [http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/WHO_Diagnostic_RecommendationsH1N1_20090521.pdf], consultat el 10 de Maig, 2011.
105. European Medicines Agency. *Updated review of influenza antiviral medicinal products for potential use during pandemic by the Committee for*

Medicinal Products for Human Use (CHMP) of the European Medicines Agency (EMA). **2009**, disponible a

[http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Report/2009/11/WC500011117.pdf], consultat el 10 de Maig, 2011.

106. Moscona A. *Neuraminidase inhibitors for influenza*. N Engl J Med. **2005**; 353: 1363-1373.

107. Deyde VM, Xu X, Bright RA, Shaw M, Smith CB, Zhang Y, et al.

Surveillance

of resistance to adamantanes among influenza A(H3N2) and A(H1N1) viruses isolated worldwide. J Infect Dis. **2007**;196: 249-257.

108. Weinstock DM, Zuccotti G. *Adamantane resistance in influenza A*. JAMA. **2006**; 295: 934-936.

109. Hayden FG, de Jong MD. *Emerging influenza antiviral resistance threats*. J Infect Dis. **2011**; 203:6.

110. World Health Organization. *Pandemic (H1N1) 2009 - update 101*. **2010**, disponible a [http://www.who.int/csr/don/2010_05_21/en/index.html], consultat el 25 de maig, 2010.

111. Ferraris O, Lina B. *Mutations of neuraminidase implicated in*

neuraminidase

inhibitors resistance. J Clin Virol. **2008**; 41: 13-19.

112. Ledesma J, Vicente D, Pozo F, Cilla G, Castro SP, Fernández JS, et al.

Oseltamivir-resistant pandemic influenza a (H1N1) 2009 viruses in Spain. J Clin Virol. **2011**; 51: 205-208.

113. Matheson NJ, Harnden AR, Perera R, Sheikh A, Symmonds-Abrahams M.

Neuraminidase inhibitors for preventing and treating influenza in children.

Cochrane Database Syst Rev. **2007**; CD002744.

114. Fiore AE, Shay DK, Broder K, Iskander JK, Uyeki TM, Mootrey G, et al. *Prevention and control of influenza: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2008*. MMWR Recomm Rep. **2008**; 57:1-60.

115. Centers for Diseases Control and Prevention (CDC). *Updated Interim Recommendations for the Use of Antiviral Medications in the Treatment and Prevention of Influenza for the 2009-2010 Season*. **2009**, disponible a [<http://www.cdc.gov/h1n1flu/recommendations.htm>], consultat el 25 de maig, 2010.

116. European Medicines Agency. Tamiflu® *Ficha técnica o resumen de las características del producto*. **2009**, disponible a [http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000402/WC500033106.pdf], consultat l'11 de Maig, 2011.

117. Whitley RJ, Hayden FG, Reisinger KS, Young N, Dutkowski R, Ipe D, et al. *Oral oseltamivir treatment of influenza in children*. Pediatr Infect Dis J. **2001**; 20: 127-133.

118. Pollack, A. *Childhood deaths in Japan bring new look at flu drug*. New York Times. **2005**, 18 de Novembre.

119. Jhee SS, Yen M, Ereshefsky L, Leibowitz M, Schulte M, Kaeser B, et al. *Low penetration of oseltamivir and its carboxylate into cerebrospinal fluid in healthy Japanese and Caucasian volunteers*. Antimicrob Agents Chemother. **2008**; 52: 3687-3693.

120. Kimberlin DW, Shalabi M, Abzug MJ, Lang D, Jacobs RF, Storch G, et al. *Safety of oseltamivir compared with the adamantanes in children less than 12 months of age*. Pediatr Infect Dis J. **2010**; 29: 195-198.

121. Subdirecció General de Vigilància i Resposta a Emergències en Salut Pública. Generalitat de Catalunya. Departament de Salut. *Pla d'actuació a Catalunya enfront d'una infecció pel virus pandèmic (H1N1) 2009*. **2009**, disponible a

[<http://www.gencat.cat/salut/depsalut/html/ca/dir3341/gr27042009.pdf>], consultat el 15 de juny, 2010.

122. Fiore AE, Uyeki TM, Broder K, Finelli L, Euler GL, Singleton JA, et al. *Prevention and control of influenza with vaccines: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2010*. MMWR Recomm Rep. **2010**; 59: 1-62.

123. Couch RB, Keitel WA, Cate TR. *Prevention of influenza virus infections by current inactivated influenza vaccines*. A: Brown LE, Hampson AW, Webster RG, eds. Amsterdam, Holanda: Elsevier; **1996**.

124. Jefferson T, Rivetti A, Harnden A, Di Pietrantonj C, Demicheli V. *Vaccines for preventing influenza in healthy children*. Cochrane Database Syst Rev. **2008**; CD004879.

125. Heikkinen T, Heinonen S. *Effectiveness and safety of influenza vaccination in children: European perspective*. Vaccine. **2011**; 29(43):7529-7534.

126. Groothuis JR, Lehr MV, Levin MJ. *Safety and immunogenicity of a purified haemagglutinin antigen in very young high-risk children*. Vaccine. **1994**; 12: 139-141.

127. Porter CC, Edwards KM, Zhu Y, Frangoul H. *Immune responses to influenza immunization in children receiving maintenance chemotherapy for acute lymphoblastic leukemia*. Pediatr Blood Cancer. **2004**; 42: 36-40.

128. Park CL, Frank AL, Sullivan M, Jindal P, Baxter BD. *Influenza vaccination of children during acute asthma exacerbation and concurrent prednisone therapy*. Pediatrics. **1996**; 98: 196-200.

129. Comité Asesor de Vacunas. *Recomendaciones de vacunación antigripal estacional 2010-2011*. **2010**, disponible a [<http://vacunasaep.org/documentos/recomendaciones-de-vacunacion-antigripal-estacional-2010-2011>], consultat el 10 de febrer, 2011.
130. Steliarova-Foucher E, Stiller C, Kaatsch P, Berrino F, Coebergh JW, Lacour B, et al. *Geographical patterns and time trends of cancer incidence and survival among children and adolescents in Europe since the 1970s (the ACCISproject): an epidemiological study*. *Lancet*. **2004**; 364: 2097-2105.
131. S Rives. *Leucemia aguda linfoblàstica en el niño*. *Hematol Práct* **2008**; 3: 21-28.
132. Corrigan JJ, Feig SA. *Guidelines for pediatric cancer centers*. *Pediatrics*. **2004**; 113: 1833-1835.
133. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. *Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group*. *Br J Haematol*. **1976**; 33: 451-458.
134. Zipf, TF, Berg, SL, Roberts, WM. *Childhood Leukemias. A: Clinical Oncology (2nd ed)*, Abeloff, MD, Armitage, JO, Lichter, AS, eds., New York, Estats Units: Churchill Livingstone; **2000**.
135. Koskenvuo M, Möttönen M, Rahiala J, Saarinen-Pihkala UM, Riikonen P, Waris M, et al. *Respiratory viral infections in children with leukemia*. *Pediatr Infect Dis J*. **2008**; 27: 974-980.
136. Hall CB, Powell KR, MacDonald NE, , Gala CL, Menegus ME, Suffin SC, et al. *Respiratory syncytial viral infection in children with compromised immune function*. *N Engl J Med*. **1986**; 315: 77-81.

137. Koskenvuo M, Möttönen M, Rahiala J, Saarinen-Pihkala UM, Riikonen P, Waris M, et al. *Mixed bacterial-viral infections in septic children with leukemia*. *Pediatr Infect Dis J*. **2007**; 26: 1133-1136.
138. Mendoza Sánchez MC, Ruiz-Contreras J, Vivanco JL, Fernández-Carrión F, Baro Fernández M, Ramos JT, et al. *Respiratory virus infections in children with cancer or HIV infection*. *J Pediatr Hematol Oncol*. **2006**; 28: 154-159.
139. Whimbey E, Englund JA, Couch RB. *Community respiratory virus infections in immunocompromised patients with cancer*. *Am J Med*. **1997**; 102: 10-18.
140. El Saleeby C, Somes GW, DeVincenzo JP, Gaur AH. *Risk factors for severe respiratory syncytial virus disease in children with cancer: The importance of lymphopenia and young age*. *Pediatrics*. **2008**; 121: 235-243.
141. Anaissie EJ, Mahfouz TH, Aslan T, Pouli A, Desikan R, Fassas A, et al. *The natural history of respiratory syncytial virus infection in cancer and transplant patients: implications for management*. *Blood*. **2004**; 103: 1611-1616.
142. Lujan-Zilbermann JJ, Benaim E, Tong X, Srivastava DK, Patrick CC, DeVincenzo JP. *Respiratory virus infections in pediatric hematopoietic stem cell transplantation*. *Clin Infect Dis*. **2001**; 33: 962-968.
143. Kunisaki KM, Janoff EN. *Influenza in immunosuppressed populations: a review of infection frequency, morbidity, mortality, and vaccine responses*. *Lancet Infect Dis*. **2009**; 9: 493-504.
144. Kempe A, Hall CB, MacDonald NE, Foye HR, Woodin KA, Cohen HJ, et al. *Influenza in children with cancer*. *J Pediatr*. **1989**; 115: 33-39.
145. Shildt RA, Luedke DW, Kasai G, El-Beheri S, Laham MN. *Antibody response to influenza immunization in adult patients with malignant disease*. *Cancer*. **1979**; 44: 1629-1635.

146. Porter CC, Poehling KA, Hamilton R, Frangoul H, Cooper WO. Influenza immunization practices among pediatric oncologists. *J Pediatr Hematol Oncol.* **2003**; 25: 134-138.
147. Sánchez-Torrent L, Triviño-Rodríguez M, Suero-Toledano P, Claret-Teruel G, Muñoz-Almagro C, Martínez-Sánchez L, García-García JJ. *Novel influenza A (H1N1) encephalitis in a 3-month-old infant.* *Infection.* **2010**; 38: 227-229.
148. Badell I, Muñoz A, Estella J, Fernández-Delgado R, Javier G, Verdeguer A, et al. *Long-term results of two consecutive trials in childhood acute lymphoblastic leukaemia performed by the Spanish Cooperative Group for Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Group (SHOP) from 1989 to 1998.* *Clin Transl Oncol.* **2008**; 10:117-124.
149. Brueggemann AB, Griffiths DT, Meats E, Peto T, Crook DW, Spratt BG. *Clonal relationships between invasive and carriage Streptococcus pneumoniae and serotype- and clone-specific differences in invasive disease potential.* *J Infect Dis.* **2003**; 187:1424-1432.
150. Sleeman KL, Griffiths D, Shackley F. *Capsular serotype-specific attack rates and duration of carriage of Streptococcus pneumoniae in a population of children.* *J Infect Dis.* **2006**; 194:682-688.
151. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *2009-2010 Influenza Season Week 19 ending May 15, 2010.* **2010**, disponible a [<http://www.cdc.gov/flu/weekly/weeklyarchives2009-2010/weekly19.htm>], consultat el 19 de juny, 2010.
152. Mazick A, Gergonne B, Wuillaume F, Danis K, Vantarakis A, Uphoff H, et al. *Higher all-cause mortality in children during autumn 2009 compared with the three previous years: pooled results from eight European countries.* *Euro Surveill.* **2010**; 15: pii=19480.

153. del Rosal T, Baquero-Artigao F, Calvo C, Mellado MJ, Molina JC, Santos Mdel M, et al. *Pandemic H1N1 influenza-associated hospitalizations in children in Madrid, Spain*. *Influenza Other Respi Viruses*. **2011**; 5: e544-51.
154. Bender JM, Ampofo K, Gesteland P, Stoddard GJ, Nelson D, Byington CL, et al. *Development and validation of a risk score for predicting hospitalization in children with influenza virus infection*. *Pediatr Emerg Care*. **2009**; 25: 369-375.
155. Coffin SE, Zaoutis TE, Rosenquist AB, Heydon K, Herrera G, Bridges CB, et al. *Incidence, complications, and risk factors for prolonged stay in children hospitalized with community-acquired influenza*. *Pediatrics*. **2007**; 119: 740-748.
156. American Academy of Pediatrics Committee on Infectious Diseases. *Recommendations for prevention and control of influenza in children, 2011-2012*. *Pediatrics*. **2011**; 128: 813-825.
157. Lockman JL, Fischer WA, Perl TM, Valsamakis A, Nichols DG. *The critically ill child with novel H1N1 influenza A: a case series*. *Pediatr Crit Care Med*. **2010**; 11: 173-178.
158. Nguyen-Van-Tam J, Openshaw P, Hashim A, Gadd E, Lim W, Semple M, et al. *Risk factors for hospitalisation and poor outcome with pandemic A/H1N1 influenza: United Kingdom first wave (May-September 2009)*. *Thorax*. **2010**; 65: 645.
159. Zimmerman O, Rogowski O, Aviram G, Mizrahi M, Zeltser D, Justo D, et al. *C-reactive protein serum levels as an early predictor of outcome in patients with pandemic H1N1 influenza A virus infection*. *BMC Infectious Diseases*. **2010**; 10: 288.
160. Kawashima H, Go S, Kashiwagi Y, Morishima Y, Morishima Y, Miura T, Ushio M, et al. *Cytokine profiles of suction pulmonary secretions from children infected with pandemic influenza A(H1N1) 2009*. *Crit Care*. **2010**; 14: 411.

161. Quispe-Laime AM, Bracco JD, Barberio PA, Campagne CG, Rolfo VE, Umberger R, et al. *H1N1 influenza A virus-associated acute lung injury: response to combination oseltamivir and prolonged corticosteroid treatment*. Intensive Care Med. **2010**; 36: 33-41.
162. Martin-Loeches I, Lisboa T, Rhodes A, Moreno RP, Silva E, Sprung C, et al. *Use of early corticosteroid therapy on ICU admission in patients affected by severe pandemic (H1N1)v influenza A infection*. Intensive Care Med. **2011**; 37: 272-283.
163. Viasus D, Paño-Pardo JR, Cordero E, Campins A, López-Medrano F, Villoslada A, et al. *Effect of immunomodulatory therapies in patients with pandemic influenza A (H1N1) 2009 complicated by pneumonia*. J Infect. **2011**; 62: 193-199.
164. de Jong MD, Simmons CP, Thanh TT, Hien VM, Smith GJ, Chau TN, et al. *Fatal outcome of human influenza A (H5N1) is associated with high viral load and hypercytokinemia*. Nat Med. **2006**; 12: 1203-1207.
165. UtoKaparch S, Marchant D, Gosselink JV, McDonough JE, Thomas EE, Hogg JC et al. *The relationship between respiratory viral loads and diagnosis in children presenting to a pediatric hospital emergency department*. Pediatr Infect Dis J. **2011**; 30: e18-23.
166. Jansen RR, Schinkel J, Dek I, Koekkoek SM, Visser CE, de Jong MD, et al. *Quantitation of respiratory viruses in relation to clinical course in children with acute respiratory tract infections*. Pediatr Infect Dis J. **2010**; 29: 82-84.
167. Rello J, Lisboa T, Lujan M, Gallego M, Kee C, Kay I, et al. *Severity of pneumococcal pneumonia associated with genomic bacterial load*. Chest. **2009**; 136: 832-840.
168. Lisboa T, Waterer G, Rello J. *We should be measuring genomic bacterial load and virulence factors*. Crit Care Med. **2010**; 38(Suppl 10): 656-662.

169. Singanayagam A, Singanayagam A, Wood V, Chalmers JD. *Factors associated with severe illness in pandemic 2009 influenza A (H1N1) infection: Implications for triage in primary and secondary care.* J Infect. **2011**; 63: 243-251
170. Lau LL, Cowling BJ, Fang VJ, Chan KH, Lau EH, Lipsitch M, et al. *Viral shedding and clinical illness in naturally acquired influenza virus infections.* J Infect Dis. **2010**; 201: 1509-1516.
171. Wu UI, Wang JT, Chen YC, Chang SC. *Severity of pandemic H1N1 2009 influenza virus infection may not be directly correlated with initial viral load in upper respiratory tract.* Influenza and Other Respiratory Viruses **2011**.
[publicació electrònica] doi: 10.1111/j.1750-2659.2011.00300.x
172. Jiang TJ, Zhang JY, Li WG, Xie YX, Zhang XW, Wang Y, et al. *Preferential loss of Th17 cells is associated with CD4 T cell activation in patients with 2009 pandemic H1N1 swine-origin influenza A infection.* Clin Immunol. **2010**; 137: 303-310.
173. Baruteau AE, Boimond N, Ramful D. *Myocarditis associated with 2009 influenza A (H1N1) virus in children.* Cardiol Young. **2010**; 20: 351-352.
174. Jain R, Goldman RD. *Novel influenza A(H1N1): clinical presentation, diagnosis, and management.* Pediatr Emerg Care. **2009**; 25: 791-796.
175. Timenetsky KT, Aquino SH, Saghabi C, Taniguchi C, Silvia CV, Correa L, et al. *High success and low mortality rates with non-invasive ventilation in influenza A H1N1 patients in a tertiary hospital.* BMC Res Notes. **2011**; 4: 375.
176. Mayordomo-Colunga J, Medina A, Rey C, Díaz JJ, Concha A, Los Arcos M, et al. *Predictive factors of non invasive ventilation failure in critically ill children: a prospective epidemiological study.* Intensive Care Med. **2009**; 35: 527-536.

177. Gili T, Pons M. *Ventilación no invasiva*. **2011**, disponible a [http://www.secip.com/publicaciones/protocolos/doc_download/96-protocolo-ventilacion-no-invasiva], consultat el 1 de febrer, 2012.
178. Viasus D, Paño-Pardo JR, Pachón J, Riera M, López-Medrano F, Payeras A, et al. *Timing of Oseltamivir Administration and Outcomes in Hospitalized Adults with Pandemic 2009 Influenza A (H1N1) Virus Infection*. *Chest*. **2011**; 140: 1025-1032.
179. Alanko S, Salmi TT, Pelliniemi TT. *Recovery of blood T-cell subsets after chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia*. *Pediatr Hematol Oncol*. **1994**; 11: 281-292.
180. Karapinar DY, Ay Y, Karzaoğlu Z, et al. *Experience of pandemic influenza with H1N1 in children with leukemia*. *Pediatr Hematol Oncol*. **2011**; 28: 31-36.
181. Tavil B, Azik F, Culha V, et al. *Pandemic H1N1 influenza infection in children with acute leukemia: a single-center experience*. *J Pediatr Hematol Oncol*. **2012**; 34: 48-50.
182. Zeller B, Hellebostad M. *H1N1 infection in children with haematological and oncological diseases in Norway*. *Acta Paediatr*. **2011**; 100:1134-1137.
183. Bate J, Yung CF, Hoschler K, Sheasby L, Morden J, Taj M, et al. *Immunogenicity of pandemic (H1N1) 2009 vaccine in children with cancer in the United Kingdom*. *Clin Infect Dis*. 2010; 51: e95-104.
184. Carr S, Ilyushina NA, Franks J, Adderson EE, Caniza M, Govorkova EA, et al. *Oseltamivir-resistant influenza A and B viruses pre- and postantiviral therapy in children and young adults with cancer*. *Pediatr Infect Dis J*. **2011**; 30: 284-288.
185. Tasian SK, Park JR, Martin ET, Englund JA. *Influenza-associated morbidity in children with cancer*. *Pediatr Blood Cancer*. **2008**; 50: 983-987.

ABREVIACIONS

9. ABREVIACIONS

Àcid ribonucleic (ARN)

Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP)

Agència Europea del Medicament (EMA)

Associació espanyola de pediatria (AEP)

Centres per al Control i Prevenció de Malalties (CDC)

Food and Drug Administration (FDA)

Hemaglutinina (HA)

Influenza-like illness (ILI)

Interval de confiança del 95% (IC95%)

Leucèmia limfoblàstica aguda (LLA)

Llindar de cicles de detecció -cycle threshold- (Ct)

Neuraminidasa (NA)

Odds-ratio (OR)

Organització Mundial de la Salut (OMS)

Oseltamivir carboxilat (OC)

Proteïna C-reactiva (PCR)

Rang interquartílic (RIQ)

Risc relatiu (RR)

Sistema de classificació Francès-Americà-Britànic de la leucèmia limfoblàstica aguda (FAB)

Societat espanyola d'Hematologia i Oncologia pediàtrica (SHOP)

Toll-like receptor (TLR)

Transcripció reversa i amplificació per reacció en cadena de la polimerasa (RT-PCR).

Unitat de cures intensives pediàtriques (UCIP).

Virus Respiratori Sincitial (VRS)

AGRAÏMENTS

A la meva família: origen, motor i destí.

Als meus directors, el Dr Juan José García García i la Dra Carmen Muñoz-Almagro, per la seva abnegació i suport constant.

*Als serveis d' Hematologia, Pediatria i la Unitat de Cures Intensives
Pediàtriques de l'Hospital Sant Joan de Déu; molt especialment a la Dra
Susana Rives, al Dr Jesús Estella, al Dr Jordi Pou i a la Dra Iolanda Jordan.*

Al Departament de Microbiologia Molecular.

*Al Dr Josep Caritg, per tota la seva confiança i complicitat al llarg del temps en
que es desenvolupà aquest projecte.*

Al Dr Rello, pels seus consells i orientació.

*A tots aquells que han participat en la meva formació, des dels començaments
fins ara; i a tots els que han fet amb mi algunes de les diferents etapes d'aquest
camí: coautors, companys, amics i les "meves" dones.*

*I, molt afectuosament, a l'Àlex i la Gemma, per suportar tots els "Good
morning, ladies and gentlemen", i tot el que hem viscut durant aquest temps.*

