

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=ca>

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=es>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

UAB

Universitat Autònoma de Barcelona

NEUMONÍA POR VIRUS INFLUENZA A EN PACIENTES INGRESADOS EN UCI.

Tesis Doctoral

SANDRA BARBADILLO ANSORREGUI

Directores: Dr. Francisco Javier González de Molina Ortiz
Dr. Francisco Álvarez Lerma
Tutor: Dr. Juan Pedro-Botet Montoya

Programa de Doctorado en Medicina
Departamento de Medicina
Barcelona, 2024

Dedicatoria

Aita:

Ez nauzu inoiz zure eskutik askatu.

Agradecimientos

Desde que en el año 2015 decidí comenzar a trabajar sobre el tema de mi tesis doctoral, sabía que me costaría tiempo, dedicación, conciliación con mi vida personal, laboral y familiar.

No sabía que se cruzaría una pandemia en mi formación como médico intensivista.

Que perdería a mi padre por una enfermedad que sólo le dio un mes para poder tomar conciencia de que su vida, aunque corta, había sido plena.

Tampoco contaba con que después de 25 años de intensivismo en dedicación total a la asistencia, a las guardias y a las infecciones, iba a vivir un cambio en mi vida profesional hacia un cargo de responsabilidad que no esperaba, agradezco al equipo directivo su confianza.

Sé perfectamente que no son excusas, pero al final con la ayuda de las personas que más quiero he podido llegar al final de esta trayectoria que pone la guinda a la parte educativa dentro de la medicina y al comienzo de otra, espero, como docente ya que esta ha sido siempre mi gran meta, transmitir mis conocimientos a nuevos médicos que tengan tanta ilusión y vocación como la que yo siempre he tenido.

Es el momento de reflexionar y ser agradecida.

Gracias a las personas que fueron mi familia en el Servicio de Medicina Intensiva en el Hospital Universitario Josep Trueta en Girona, cuando llegué, las dificultades de la lengua, la cultura, los conocimientos de la especialidad, quedaron diluidos por la ilusión tan grande que tenía de ser intensivista, y formarme en esa ciudad tan bonita con la provincia más atractiva: mar y montaña.

Gracias al Dr. Bonet por poner siempre los puntos sobre las íes, por su apoyo y su capacidad de trabajo.

Gracias a Ana, mi hada madrina, la adjunta más dulce y más querida

Gracias a Toni por transmitirme su ojo clínico

A Sirvent por su constancia y sus conocimientos en el mundo de la infección.

A todos mis compañeros de residencia: R grandes y R pequeños que me hicieron sentirme como en familia.

Una mención especial a toda la enfermería, lo saben, cuanto los quiero.

Mi segunda etapa fue en el Hospital Universitario General de Catalunya, aterricé allí por amor, pero es verdad que al final me he enamorado del hospital y de la forma de trabajar, de esa UCI a la que agradezco mi desarrollo como persona y profesional, a Mariló mi jefa para siempre y amiga, esas guardias de suplicio y esas escapadas a esquiar saliendo de guardia.

Un recuerdo especial a Ángeles León que me cuidó como una madre, te recordaremos siempre.

A todos mis compañeros que han sido muchísimos, porque de todos he aprendido mucho, ahora sé que cuando algo no sabes lo mejor es preguntar, para eso somos un equipo.

Especialmente agradezco a los compañeros que me apoyaron en el momento de dolor en el que me sumí cuando murió mi padre, Roser, Olga, Pilar, Aitor, María Luisa, JuanMi, Sandra, Cinta, Jorge, y a todo el equipo tan grande que luce esa UCI: Silvia, Sara, Jesús, Dani, Oscar, Alexia, Carmen, Sonia, Marta, Conchi, Maribel, Eva y todos.

A los compañeros de CST por quererme.

A Paco Álvarez Lerma que siempre me ha acompañado desde que era pequeñita de R1 para mí ya era un experto en ese mundo tan complejo de las infecciones, siempre recordaré sus preguntas discretas cada vez que coincidíamos en una reunión, ¿cómo vas con eso?, él sabe que no ha sido fácil. Muchas gracias Paco por ser mi director de Tesis y acompañarme hasta el final, siempre te estaré agradecida.

A mi marido Javier que además de haber sido mi residente mayor y mi director de tesis, ha sido y es la persona que siempre tengo al lado, gracias por tu paciencia, gracias por ser mi amigo, mi compañero de vida y mi almohada donde apoyarme. TQ.

A mis hijos Alba y Marcos, porque saben respetar que sus padres son intensivistas, que las siestas post-guardia son sagradas, que los colores en el calendario corresponden a papá o a mamá, que tanto las excursiones con papa como las pelis de Barbie tirados en el sofá con mamá formaban parte de esa vida en familia que seguimos construyendo. Sois estupendos, luchad por lo que deseáis.

Y a mi familia:

A mi hermana Natalia que es mi yin o mi yan, depende, porque nuestra relación está basada en el cariño, respeto y orgullo. Te quiero. Raúl, Álvaro y Diego: sois lo más.

Y por supuesto a mis padres:

Ellos me han hecho ser como soy, una persona valiente y luchadora dispuesta a conseguir siempre mis metas, dándome libertad, confianza y apoyo.

A ti Mamá por estar siempre ahí incluso en silencio y en la distancia por apoyarme siempre, por quererme y decírmelo. Estoy orgullosa de parecerme a ti.

Y a ti aita por darme la fuerza y el tesón de defender lo mío y a los míos, sé que estarías hinchado de orgullo y por ti también estoy aquí.

Mamá y tú formasteis una familia sólida y esa es la mejor herencia que me habéis dejado.

Abreviaturas

API: Aspergilosis Broncopulmonar Invasiva

ATS: American Thoracic Society

CDC: Centro de Control y Prevención de Enfermedades Infecciosas

CPK: Creatin Fosfoquinasa

EAP: Edema Agudo de Pulmón

ELISA: Ensayo Inmunoenzimático

EPOC: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica

H/HA: Hemaglutinina

ICC: Insuficiencia Cardíaca Congestiva

IRA: Insuficiencia Respiratoria Aguda

LDH: Lactato Deshidrogenasa

OMS: Organización Mundial de la Salud

PCR: Polimerasa Chain Reaction

PCT: Procalcitonina

SDRA: Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo

SEMICYUC: Sociedad Española de Medicina Intensiva Crítica y Unidades Coronarias

SNC: Sistema Nervioso Central

SpCoI: Streptococcus pneumonia Co-infection.

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos

VM: Ventilación Mecánica

Índice de Tablas

TABLA 1: COMPARISON OF DEMOGRAPHIC AND CLINICAL CHARACTERISTICS AMONG PATIENTS WITH INFLUENZA A(H1N1) VERSUS INFLUENZA A(H3N2).	55
TABLA 2: COMPARISON OF DEMOGRAPHIC AND CLINICAL CHARACTERISTICS AMONG PATIENTS WITH AND WITHOUT PNEUMOCOCCAL COINFECTION	58
TABLA 3: COMPARISON OF DEMOGRAPHIC AND CLINICAL CHARACTERISTICS AMONG PATIENTS WITH INFLUENZA A (H1N1)PDM09 PNEUMONIA ADMITTED TO ICU UNDER INVASIVE MECHANICAL VENTILATION WITH OR WITHOUT <i>ASPERGILLUS</i> ISOLATION IN RESPIRATORY SAMPLES.	64
TABLA 4: MULTIVARIATE LOGISTIC REGRESSION ANALYSIS FOR RISK FACTORS FOR DEATH AMONG CRITICALLY ILL VENTILATED PATIENTS WITH INFLUENZA A(H1N1) PNEUMONIA.	66
TABLA 5: CHARACTERISTICS OF PATIENTS ACCORDING STUDY COHORT MORTALITY H1N1 vs SARS-CoV_2	69
TABLA 6: (CONTINUATION) CHARACTERISTICS OF PATIENTS ACCORDING STUDY COHORT MORTALITY H1N1 vs SARS-CoV_2	70
TABLA 7: ADDITIVE LOGISTIC REGRESSION FOR SARS-COV-2	70
TABLA 8: CHARACTERISTICS OF PATIENTS AFTER PROPENSITY SCORE MATCHING	71
TABLA 9: ASSOCIATION COHORT	72

Índice de Figuras

ILUSTRACIÓN 1: DIAGRAMA DE DISTRIBUCIÓN DE LOS CASOS DE PACIENTES INGRESADOS EN LA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS CON INFECCIÓN POR VIRUS INFLUENZA A(H1N1)pdm09 VERSUS INFLUENZA A (H3N2).....	54
ILUSTRACIÓN 2: DIAGRAMA DE DISTRIBUCIÓN DE LOS CASOS DE INFLUENZA A(H1N1)pdm09 INGRESADOS EN UCI EN FUNCIÓN DE LA COINFECCIÓN SPCoI.....	57
ILUSTRACIÓN 3: COMPARACIÓN DE LAS CURVAS ROC PARA LA PREDICCIÓN DE LA COINFECCIÓN BACTERIANA ENTRE LA PCR (PROTEÍNA C REACTIVA), PROCALCITONINA Y LEUCOCITOS.....	61
ILUSTRACIÓN 4: DIAGRAMA DE DISTRIBUCIÓN DE LOS CASOS DE NEUMONÍA POR INFLUENZA A(H1N1)pdm09 INGRESADOS EN UCI EN FUNCIÓN DEL AISLAMIENTO DE <i>ASPERGILLUS</i> EN VÍAS RESPIRATORIAS.....	62
ILUSTRACIÓN 5: DIAGRAMA DE DISTRIBUCIÓN DE LOS CASOS DE NEUMONIA POR INFLUENZA A(H1N1)pdm09 Y SARS-CoV-2 PARA SU ANÁLISIS DE MORTALIDAD.....	66
ILUSTRACIÓN 6: EFFECT OF AGE ON THE PROBABILITY THAT THE PATIENT BELONGS TO THE SARS-CoV-2 COHORT (95%CI).....	71

Índice

RESUMEN	19
ABSTRACT	21
1. INTRODUCCIÓN	23
1.1. INTRODUCCIÓN GENERAL	23
1.1.1. VIRUS INFLUENZA	23
1.1.2. EPIDEMIOLOGÍA	25
1.1.3. PATOGENIA	28
1.1.4. SÍNDROMES CLÍNICOS	29
1.1.5. DIAGNÓSTICO	31
1.1.6. VACUNACIÓN	32
1.1. INTRODUCCIÓN ESPECÍFICA A LAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN DE LA TESIS DOCTORAL	33
1.2.1 DIFERENCIAS CLÍNICAS ENTRE LA INFECCIÓN POR INFLUENZA A (H1N1)PDM09 E INFLUENZA A(H3N2) EN EL PACIENTE CRÍTICO	33
1.2.2 CO-INFECCIÓN NEUMOCÓCICA EN PACIENTES CRÍTICOS CON NEUMONÍA VIRAL PRIMARIA POR INFLUENZA A(H1N1)PDM09.	35
1.2.3 SIGNIFICANCIA CLÍNICA DEL AISLAMIENTO DE <i>ASPERGILLUS SPP.</i> EN EL PACIENTE CRÍTICO CON INFLUENZA A (H1N1)PDM09	36
1.2.4 DIFERENCIAS DE MORTALIDAD ENTRE LA INFECCIÓN POR INFLUENZA A H1N1PDM09 Y SARS-CoV-2 EN EL PACIENTE CRÍTICO. 37	
2. HIPÓTESIS	39
3. OBJETIVOS	41
3.1. OBJETIVO PRINCIPAL	41
3.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS	41
4. METODOLOGÍA	43
4.1 ESTUDIO 1. DIFERENCIAS CLÍNICAS ENTRE LA INFECCIÓN POR INFLUENZA A (H1N1)PDM09 E INFLUENZA A(H3N2) EN EL PACIENTE CRÍTICO	43
4.2 ESTUDIO CO-INFECCIÓN NEUMOCÓCICA EN PACIENTES CRÍTICOS CON NEUMONÍA VIRAL PRIMARIA POR INFLUENZA A(H1N1)PDM09	45
4.3 SIGNIFICANCIA CLÍNICA EN EL AISLAMIENTO DE <i>ASPERGILLUS SPP.</i> EN EL PACIENTE CRÍTICO CON INFLUENZA A (H1N1)PDM09	47
4.4 DIFERENCIAS DE MORTALIDAD ENTRE LA INFECCIÓN POR INFLUENZA A H1N1PDM09 Y SARS-CoV-2 EN EL PACIENTE CRÍTICO. 49	
5. RESULTADOS.....	53
5.1 DIFERENCIAS CLÍNICAS ENTRE LA INFECCIÓN POR INFLUENZA A (H1N1)PDM09 E INFLUENZA A(H3N2) EN EL PACIENTE CRÍTICO	53
5.2 CO-INFECCIÓN NEUMOCÓCICA EN PACIENTES CRÍTICOS CON NEUMONÍA VIRAL PRIMARIA POR INFLUENZA A(H1N1)PDM09.	57
5.3 SIGNIFICANCIA CLÍNICA EN EL AISLAMIENTO DE <i>ASPERGILLUS SPP.</i> EN EL PACIENTE CRÍTICO CON INFLUENZA A (H1N1)PDM09	62
5.4 DIFERENCIAS DE MORTALIDAD ENTRE LA INFECCIÓN POR INFLUENZA A H1N1PDM09 Y SARS-CoV-2 EN EL PACIENTE CRÍTICO. 66	
.....	66
6. DISCUSIÓN	73
6.1 DIFERENCIAS CLÍNICAS ENTRE LA INFECCIÓN POR INFLUENZA A (H1N1)PDM09 E INFLUENZA A(H3N2) EN EL PACIENTE CRÍTICO	73

6.2	CO-INFECCIÓN NEUMOCÓCICA EN PACIENTES CRÍTICOS CON NEUMONÍA VIRAL PRIMARIA POR INFLUENZA A(H1N1)PDM09.	80
6.3	SIGNIFICANCIA CLÍNICA EN EL AISLAMIENTO DE <i>ASPERGILLUS</i> SPP. EN EL PACIENTE CRÍTICO CON INFLUENZA A (H1N1)PDM09.....	82
6.4	DIFERENCIAS DE MORTALIDAD ENTRE LA INFECCIÓN POR INFLUENZA A H1N1PDM09 Y SARS-CoV-2 EN EL PACIENTE CRÍTICO.	85
7.	CONCLUSIONES.....	89
8.	LÍNEAS DE FUTURO.....	91
9.	BIBLIOGRAFÍA	93

Resumen

El objetivo principal de esta tesis doctoral es describir las características clínicas y el pronóstico de la infección por Influenza A(H1N1) pdm09 en pacientes críticos. En esta Tesis se han realizado cuatro estudios bien diferenciados. Estos estudios observacionales prospectivos multicéntricos de cohortes se han basado en los datos del registro GETGAG/SEMICYUC (2009-2018) recogidos por 148 UCIs españolas. En un primer estudio se describen las diferencias clínicas entre la infección por Influenza A(H1N1)pdm09 e Influenza A(H3N2) en el paciente crítico. Nuestros datos sugieren que estos dos subtipos de Influenza A tienen una presentación clínica diferente. Mientras que la Influenza A (H1N1)pdm09 afecta a pacientes más jóvenes, con menos comorbilidades y ocasiona una insuficiencia respiratoria aguda más grave, la influenza A (H3N2) se presenta con más frecuencia en ancianos, con coinfección bacteriana y con más enfermedades crónicas. En un segundo estudio se describe la incidencia, características clínicas y pronóstico de la coinfección bacteriana por *S. pneumoniae*, así como el valor de la procalcitonina en la predicción de la coinfección. En nuestro estudio, no hubo asociación estadísticamente significativa entre la coinfección bacteriana y la mortalidad en UCI. Los valores de procalcitonina por debajo de 0,20 ng/ml tienen un alto valor predictivo negativo (90,1%) y representan un biomarcador útil para descartar la coinfección bacteriana. El tercer estudio describe las características clínicas y demográficas de los pacientes con aislamiento de *Aspergillus* en neumonía viral primaria grave por Influenza A(H1N1)pdm09 que requieren ventilación mecánica invasiva. La mortalidad de los pacientes con aislamiento de *Aspergillus* fue muy elevada (65,2%) y representa un factor independiente asociado a la mortalidad intrahospitalaria. En marzo de 2020, en la etapa final del desarrollo de esta tesis, se observó una reducción significativa en el número de casos de influenza y otras infecciones

respiratorias debido al brote de la pandemia de SARS-CoV-2. Tanto la Influenza A(H1N1)pdm09 como el SARS-CoV-2 presentan la capacidad de invadir el parénquima pulmonar desarrollando Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo por neumonía viral primaria. En nuestro estudio observamos que las características clínicas y el pronóstico de estos dos agentes etiológicos difieren significativamente en el paciente con neumonía viral grave que ingresa en UCI. La mortalidad fue significativamente mayor entre los pacientes COVID-19 tras realizar un análisis de emparejamiento basado en el *propensity score* como método de ajuste para las variables de edad y comorbilidad.

Abstract

The main objective of this doctoral thesis is to describe the clinical characteristics and prognosis of Influenza A(H1N1) pdm09 infection in critically ill patients. In this Thesis, four different studies have been conducted. These prospective multicenter observational cohort studies were based on data from the GETGAG/SEMICYUC registry (2009–2018) collected by 148 Spanish ICUs. The first study describes the clinical differences between Influenza A(H1N1)pdm09 and Influenza A(H3N2) infection in critically ill patients. Our data suggest that these two subtypes of Influenza A have different clinical presentations. While Influenza A(H1N1)pdm09 affects younger patients with fewer comorbidities and causes more severe acute respiratory failure, influenza A(H3N2) more commonly affects the elderly, with bacterial coinfection and more chronic diseases. The second study describes the incidence, clinical characteristics, and prognosis of community-acquired respiratory *S. pneumoniae* coinfection in critically ill patients with pandemic 2009 influenza A(H1N1) virus. Moreover, we have evaluated the diagnostic value of procalcitonin levels at ICU admission to identify bacterial coinfection. In our study, there was not a statistically significant association between bacterial coinfection and ICU mortality. Procalcitonin values below 0.20 ng/ml have a high Negative Predictive Value (90.1%) and represent a useful biomarker for ruling out bacterial coinfection. The third study describes the clinical and demographic characteristics of patients with *Aspergillus* isolation in severe primary viral pneumonia due to Influenza A(H1N1)pdm09 requiring invasive mechanical ventilation. The mortality of patients with *Aspergillus* isolation was very high (65.2%) and represents an independent factor associated with in-hospital mortality. In March 2020, at the final stage of the development of this thesis, a significant reduction in the number of cases of influenza and other respiratory infections was observed due to the outbreak of the SARS-CoV-2 pandemic. Clinical data indicate that

severe Influenza A(H1N1)pdm09 and SARS-CoV-2 can lead to a viral pneumonia-induced acute respiratory distress syndrome (ARDS). In our study, we observed that the clinical characteristics and prognosis of these two etiological agents differ significantly in patients with severe viral pneumonia admitted to the ICU. Mortality was significantly higher among COVID-19 patients after conducting a propensity score matching analysis as a method of adjustment for age and comorbidity variables.

1. Introducción

La gripe es una de las enfermedades más antiguas que se conocen. Cada 40-50 años, la población mundial se ve amenazada por pandemias de influenza, todas y cada una de ellas con consecuencias desastrosas tanto para la salud pública como para la economía. En el año 2009 asoló el mundo un nuevo subtipo de virus de influenza, A, el virus de la influenza A(H1N1)pdm09, causó una pandemia que asoló al mundo. La influenza A(H1N1)pdm09 se propagó rápidamente, con millones de pacientes afectados y que en fecha 2010 las cifras de fallecidos documentadas por la OMS ya se estima en cerca de 17,000.

El reconocimiento del nuevo virus alertó a agencias de salud nacionales e internacionales como los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, recomendando un aumento en la vigilancia de brotes respiratorios, así como la instauración de programas centinelas.

1.1. Introducción general

1.1.1. Virus Influenza

Se denomina Gripe o Influenza a la enfermedad viral ocasionada por el virus Influenza y que ocasiona una infección respiratoria aguda. Generalmente se presenta en forma de brotes anuales de diversa gravedad y que ocasionalmente puede causar epidemias mundiales denominadas pandemias. Los virus Influenza infectan el tracto respiratorio, son muy contagiosos y producen una variedad de síndromes clínicos que incluyen principalmente

resfriados comunes, faringitis, traqueobronquitis y neumonías. En ocasiones son indistinguibles de otros virus respiratorios tales como el virus respiratorio sincitial, rinovirus y adenovirus. Hasta la fecha se conocen hasta cinco pandemias causadas por el virus influenza A (1). Entre ellas, cabe destacar la llamada Gripe Española durante los años 1918-1919 (2) y la pandemia por influenza A(H1N1) de 2009(3). Fuera del impacto de las pandemias, las epidemias anuales estacionales causan una gran morbilidad entre la población con un incremento de la mortalidad asociada, un incremento de la utilización y recursos sanitarios, así como enormes pérdidas económicas (4) (5) .

El virus de la Influenza pertenece a la familia Orthomyxoviridae y se clasifica en los tipos A, B, C y D en base a su nucleoproteína y a la proteína de matriz. Es un virus de ARN y el virión presenta en su cubierta dos tipos de glucoproteínas: la hemaglutinina (H) y la neuraminidasa (N). La envoltura está compuesta por una bicapa lipídica que recubre la proteína de matriz (M1) que rodea el genoma viral. Una vez penetra en las células infectadas se produce la replicación genómica. El virus de la influenza A se subclasifica en diferentes subtipos tales como H1N1, H1N2 y H3N2 según sea la composición de hemaglutinina (H) y la neuraminidasa (N). La influenza B a su vez, también se subclasifica en diferentes linajes tales como B/Yamagata y B/Victoria. La mayoría de las infecciones en el ser humano causadas por la influenza se deben a los tipos A y B. Se llama “deriva antigénica” a las pequeñas mutaciones genéticas que el virus de la Influenza experimenta anualmente y son los causantes de los brotes estacionales. Las pandemias de Influenza se producen cuando el virus experimenta cambios antigénicos con la aparición de nuevos subtipos de hemaglutinina o de la neuraminidasa .

1.1.2. Epidemiología

La Influenza muestran una variabilidad genética y antigénica únicas que les permite ocasionar frecuentes epidemias y brotes comunitarios. Esta capacidad de mutación y su patogenicidad explican la gran eficiencia de este virus para la infección y transmisión en el huésped humano(7). Como se ha comentado anteriormente, la variación antigénica que se produce en las glucoproteínas superficiales y en especial en la hemaglutinina (H), es responsable de las subsecuentes epidemias(8). Actualmente las vacunas modernas están diseñadas para inducir anticuerpos que puedan inhibir o neutralizar la hemaglutinina (H). Por otra parte, los anticuerpos frente la neuraminidasa (NA) reducen la gravedad de la infección al limitar la replicación viral. La variación antigénica puede ser menor (deriva antigénica) o mayor (cambio antigénico). La deriva antigénica se debe a mutaciones puntuales en el gen H, mientras que el cambio antigénico implica la aparición de un nuevo virus de influenza A donde la H y/o N son nuevos para el humano o que reaparecen décadas después cuando la población ya no presenta inmunidad. Se sabe que la influenza aviar sirve frecuentemente como reservorio de los nuevos genes que posteriormente desencadenarán nuevas pandemias en el ser humano. Los cerdos también son un eslabón clave en la generación de nuevas cepas pandémicas ya que tienen la capacidad de albergar virus influenza humanos y aviar facilitando el intercambio genético. El virus de la pandemia A(H1N1)pdm09 emergió como producto de la recombinación de virus porcinos, aviar y humanos (9).

Una epidemia es un brote de influenza confinado a una ubicación geográfica. En climas templados, las epidemias comunitarias de infección por influenza A suelen tener patrón determinado, alcanzando un pico de infección en la población en 2 o 3 semanas tras su inicio y persistiendo generalmente durante 6-10 semanas (10).

Por lo general la llegada de la epidemia de Influenza en la comunidad suele iniciarse con un aumento de infecciones respiratorias entre los niños de edad escolar, seguida por la afectación entre los adultos y 1-2 semanas después se constata un aumento de ingresos hospitalarios por Influenza(11). Las tasas de hospitalización en pacientes con factores de riesgo aumentan de 2-5 veces durante las epidemias, al igual que las bajas laborales por enfermedad o las ausencias escolares. En áreas templadas, las epidemias ocurren durante los meses de otoño-invierno mientras que en los trópicos puede ser durante todo el año. Existen diferentes hipótesis que explican la estacionalidad en la infección y transmisibilidad por Influenza en los países de clima templado, entre ellas son el calendario escolar, la baja humedad y el mayor hacinamiento en estancias interiores. En ocasiones se presentan brotes en residencias, campamentos de verano o áreas turísticas en los meses cálidos. Las variantes de virus Influenza en las epidemias son comunes en las diferentes regiones y secuenciales entre los dos hemisferios(12) (13). Se estima que durante las epidemias, al menos el 5-20% de los adultos quedarán infectados siendo mayor la proporción entre los niños y o en comunidades cerradas. En una misma estación pueden coexistir dos subtipos diferentes de influenza A, dos linajes diferentes de influenza B o Influenza A y B a la vez(14). Hasta la irrupción de la COVID-19(15), la epidemia de Influenza en Europa llegaba posterior al brote VRS(16). Por otra parte, las cepas circulantes al final de una epidemia son responsables del brote en la siguiente temporada (fenómeno de onda heráldica). Cuando los registros de defunción superan un umbral esperado durante los meses de invierno suele estar asociado la influenza A. Las temporadas donde predomina la Influenza A/H3N2 están asociadas con tasas de mortalidad 2-3 veces más elevadas respecto a Influenza A no pandémico o la Influenza B. La mortalidad asociada a las epidemias estacionales es relevante pero mucho menor comparada con la mortalidad asociada a las pandemias. Más del 85% de la mortalidad relacionada con la Influenza estacional ocurre en personas mayores de 65

años generalmente por descompensación de sus enfermedades crónicas, ya sean respiratorias o cardiovasculares (17).

Las pandemias por influenza A son el resultado de la emergencia de un nuevo virus con elevada capacidad de transmisibilidad entre una población con una inmunidad limitada. El virus pandémico se propaga mundialmente y generalmente fuera de las temporadas habituales de Influenza afectando a personas de cualquier edad. Una inmunidad preexistente como consecuencia de infecciones previas por virus antigénicamente relacionados genera una protección parcial, tal y como ocurrió entre los ancianos durante la pandemia de A(H1N1) de 2009(18).

Las tasas de mortalidad durante las pandemias están significativamente incrementadas entre la población más joven y embarazadas en comparación con la influenza estacional. Durante las pandemias de 1918 y 2009, más del 90% de muertes ocurrieron en personas < 65 años. El intervalo entre las pandemias es impredecible y muy variable (10-40 años)(19).

Las pandemias graves están asociadas a alteraciones antigénicas en las glicoproteínas de superficie tanto H como N. Según sea la susceptibilidad de la comunidad y las alteraciones antigénicas virales, a la primera ola pueden producirse nuevas, aunque de menor intensidad y gravedad a la inicial. Esto se produce por adquisición en la población de mayor inmunidad perpetuándose posteriormente como epidemias estacionales tal como ocurrió con el virus influenza A(H1N1) del 2009 (20).

Las infecciones zoonóticas en relación a la influenza se adquieren procedentes de cerdos o aves ya sea de corral o silvestres(21). Éstas virus influenza raramente causan infección en el ser humano, aunque los subgrupos H5, H7 y el H9 pueden generar brotes y ser el reservorio de futuras pandemias. Un ejemplo es la emergencia del subgrupo H5N1 de origen aviar en 1997 en Asia donde se ha constatado transmisión esporádica entre humanos. Mas recientemente, en la década pasada, se han reportados casos de gripe aviar H7N9 en

China(22). De igual forma se han producido brotes de influenza de procedencia porcina como ocurrió en el año 2012 en EEUU con el subtipo H3N2. Estos subtipos van tener diferente capacidad de transmisibilidad y virulencia como veremos más tarde en esta Tesis Doctoral donde se compara el virus pandémico A(H1N1) y la Influenza A(H3N2) (23).

1.1.3. Patogenia

La transmisión de la influenza se produce mediante gotas de secreciones respiratorias infectadas entre personas a corta distancia (hasta 2 metros), aunque se puede producir a más distancia cuando se generan aerosoles, como por ejemplo en la ventilación mecánica no invasiva. Así mismo, puede ser producida a través de fómites generalmente desde las manos de la persona que posteriormente se frota la mucosa oral, nasal o conjuntival. La infección zoonótica se puede producir tras contacto directo con los animales porcinos o aviar o sus excrementos.

En la patogénesis interviene la afinidad del virus por los receptores celulares presentes en del árbol traqueobronquial y alvéolos. La infección de las células epiteliales del árbol respiratorio da lugar a la replicación viral en su interior junto con lesión y destrucción celular en un mecanismo citopático o apoptótico(24).

El período de incubación medio es de 2-4 días, aunque puede variar según el serotipo presente(9). La invasibilidad y gravedad depende en parte también del huésped y nivel de respuesta inflamatoria mediadas por receptores *toll* que desencadena la producción de citoquinas, interleucinas e interferones. Varias de estas moléculas se han descrito como mediadores de esta respuesta proinflamatoria, como IL-6, IL-8, factor de necrosis tumoral (TNF α) o la proteína quimiotáctica de monocitos-1 (MCP-1) (25)

La replicación viral suele durar 3-5 días, aunque depende de la edad, el estado inmunológico o comorbilidades del paciente(26). En ancianos puede prolongarse hasta 10 días o incluso

semanas en el inmunocomprometido. Así mismo la replicación es más intensa y de mayor duración en las neumonías virales primarias que pueden acompañarse de viremias e incluso de afectación extrapulmonar. La afectación del parénquima pulmonar se caracteriza por bronquitis necrotizante, lesión alveolar difusa con edema y hemorragia alveolar. Tras esta primera fase llamada exudativa evoluciona con formación de membranas hialinas e incluso posteriormente a una fase fibroproliferativa (27,28). En este contexto de lesión epitelial, disminución del aclaramiento ciliar, alteración inmunológica y disfunción de neutrófilos y macrófagos aumenta la susceptibilidad a coinfecciones bacterianas, principalmente por *Streptococcus pneumoniae* como veremos más adelante en la investigación de la presente Tesis Doctoral.

La inmunidad humoral que se adquiere tras la infección por influenza es específica de la cepa y subtipo y esta respuesta inmunológica es mayor cuanto más joven se adquiere. Las infecciones posteriores refuerzan esta respuesta humoral con la generación de anticuerpos y puede conferir protección parcial a otros subtipos de influenza relacionados. La inmunidad que se produce tras la vacunación es muy específica de cepa y generalmente protege por un corto espacio de tiempo (unos 6 meses). Esto obliga a revacunación anual, no solo por pérdida de la protección inmunológica sino también por cambios en los subtipos de influenza .

1.1.4. Síndromes clínicos

La gripe se presenta por un inicio abrupto de intenso mal estado general y postración con fiebre elevada, escalofríos, cefalea y artromialgias. Posteriormente se añade la odinofagia, conjuntivitis, destilación nasal y tos. La presentación de todos estos síntomas es variable entre personas, aunque la fiebre es casi siempre constante y puede ser más grave y complicada entre poblaciones de riesgo, tales como los bronquíticos crónicos, obesos,

embarazadas, otras comorbilidades como cardiopatía o hepatopatía crónica y por supuesto en inmunodeprimidos.

La influenza se puede complicar con traqueobronquitis, asma o hiperreactividad bronquial, otitis, sinusitis y bronquiolitis en niños. Sin embargo, la complicación más temida es la neumonía viral primaria con o sin coinfección bacteriana. Se caracteriza por la presencia de infiltrados pulmonares bilaterales y la alteración del intercambio gaseoso conocido como síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA). Esta complicación es poco frecuente en las epidemias estacionales, salvo en las poblaciones de riesgo antes mencionadas. Sin embargo, durante las pandemias puede llegar a representar hasta el 50% de todos los ingresos hospitalarios por neumonía, incluso en pacientes inmunocompetentes. La afectación alveolar y SDRA puede ser rápidamente progresivo con insuficiencia respiratoria grave que obligue a instaurar soporte ventilatorio invasivo e incluso circuitos de oxigenación extracorpórea (ECMO).

En ocasiones, tras la primoinfección viral y su aparente resolución, reaparece la fiebre con tos y expectoración mucopurulenta. Es la sobreinfección bacteriana, que se puede limitar a traqueobronquitis supurativa o evolucionar a una neumonía bacteriana. Los gérmenes más frecuentemente implicados son el *Streptococcus pneumoniae*, el *Haemophilus influenzae* y *Staphylococcus aureus*, éste último altamente asociado a la Influenza y con gran capacidad necrotizante. Por último, se ha reconocido a la aspergilosis broncopulmonar invasiva (API) una complicación de la Influenza, especialmente en el paciente crítico, como veremos en la investigación de la presente Tesis Doctoral.

Los casos graves de influenza grave y en especial A(H1N1)pdm09, además de SDRA, pueden provocar disfunción multisistémica. La plaquetopenia y linfopenia puede estar presente. Se han descrito casos de síndrome hemofagocítico. El dolor muscular puede estar asociado a elevación de las cifras de CPK y miositis. Tanto la pericarditis como miocarditis

son poco frecuente. Así mismo, se han descrito múltiples afectaciones del sistema nervioso central como síndrome de Guillain-Barré, encefalitis, meningitis y mielitis. Por último, en niños está bien establecida la relación entre Influenza y el Síndrome de Reye junto con el tratamiento con ácido acetilsalicílico.

1.1.5. Diagnóstico

Es preciso realizar un diagnóstico rápido que presente una alta sensibilidad y especificidad con el fin de iniciar un tratamiento antiviral que reduzca la morbi-mortalidad asociada, tanto en epidemias estacionales como en durante las pandemias. Este diagnóstico rápido ha avanzado mucho en la última década y, de hecho ya es posible acceder mediante home-kits que se pueden comprar en cualquier farmacia del mundo desarrollado(29).

Prueba rápida de antígenos: La detección de antígenos consiste en la detección de ciertas proteínas del virus mediante anticuerpos específicos. Se pueden realizar mediante inmunocromatografía, inmunofluorescencia o fluoroinmunoensayo (30,31). Son muy fáciles de realizar, son rápidos y pueden realizarse “a pie de cama”. Sin embargo su sensibilidad, entre 40-60% en adultos y algo mayor en niños, es menor comparado con otras técnicas diagnósticas debido a que requiere al menos >100 partículas virales para su positividad (32). Su especificidad es superior al 95%.

Actualmente, la rt-PCR es el método más utilizado y estandarizado para la detección e identificación del ARN viral(33). Presenta una buena sensibilidad de 92-95% y una especificidad del 98%. Recientemente ya se disponen de paneles de PCR de virus respiratorios que incluyen a la Influenza A y B, SARS-CoV-2, virus respiratorio sincitial, rinovirus y adenovirus entre otros(34).

Por último, el diagnóstico de la coinfección bacteriana se basa en los cultivos convencionales de las diferentes muestras obtenidas (esputo, broncoaspirado, lavado broncoalveolar o

cepillo). La determinación de procalcitonina también puede ayudar en la discriminación de la coinfección bacteriana (como se comentará en los resultados de la presente Tesis Doctoral)(35–37). Hoy en día también se dispone de paneles de PCR que además de incluir la detección viral se añade la identificación de los principales bacterias implicadas en infección respiratoria (33,38,39).

Otros métodos diagnósticos incluyen la inmunofluorescencia donde se detectan antígenos virales mediante la aplicación de anticuerpos fluorescentes. Finalmente los cultivos celulares, con menor sensibilidad que las técnicas PCR, de mayor complejidad y limitado a laboratorios especializados(40–42).

1.1.6. Vacunación

Cada año se establecen las recomendaciones frente a la vacunación para Influenza y desde el año 2021 también frente a la COVID-19. La vacunación está indicada en aquellas personas con mayor riesgo de padecer la enfermedad de una forma grave o presentar complicaciones, así como a las personas que pueden transmitir la enfermedad a este grupo de riesgo, tales como cuidadores, personal sanitario y empleados de centros sociosanitarios. Actualmente la vacunación en España se indica a: 1) Personas igual o mayor de 60 años de edad. 2) Personas institucionalizadas o que conviven en residencias cerradas. 3) Todas las personas menores de 60 años que presentes factores de riesgo tales como diabetes mellitus, obesidad, cardiopneumopatías severas, hepatopatía crónica, enfermedad renal crónica, hemoglobinopatías o asplenia, pacientes inmunodeprimidos, trastornos neuromusculares, 4) Embarazadas, 5)Cuidadores y convivientes con personas de alto riesgo definidos en el apartado previo, 6) Personal sanitario y centros sociosanitarios, 7) Trabajos de servicios públicos tales como protección civil, policía, fuerzas armadas y bomberos (43).

1.1. Introducción específica a las líneas de investigación de la Tesis Doctoral

1.2.1 Diferencias clínicas entre la infección por Influenza A (H1N1)pdm09 e Influenza A(H3N2) en el paciente crítico.

El virus influenza pertenece a la familia de los mixovirus e influye a las familias de *Paramyxoviridae* y *Orthomyxoviridae*. Tal como se ha señalado anteriormente, esta última familia comprende cuatro virus Influenza: A,B,C y D con características muy diferenciadas entre ellos. Tanto la Influenza A como B son los responsables de las epidemias que de forma estacional afectan a los seres humanos. Se desencadena una pandemia cuando se produce la aparición de una nueva variación genética del virus y que presenta capacidad para infectar al hombre. El virus de influenza C tiene escasa patogenicidad, de modo que suele producir infección respiratoria leve y con escasa capacidad de provocar epidemias. Por último, el virus D afecta a animales, sin capacidad de provocar enfermedad en el ser humano. (44,45). El virus de la Influenza A se subdividen en 22 subtipos según sean sus variantes antigénicas, 13H y 9N; siendo los más importantes y patógenos para los seres humanos los subtipos H1N1, H2N2 y H3N2. Para designar a los subtipos se siguen los siguientes criterios: (1) Tipo del virus influenza: Tipo antigénico, (2) Origen geográfico, (3) Número de la cepa, (4) Año del aislamiento, (5) Para virus influenza A se expresa entre paréntesis los antígenos hemaglutinina y neuroaminidasa (H/N). El virus de la Influenza A se caracteriza por la gran facilidad en presentar variaciones en los genes que codifican los antígenos hemaglutinina (H) y neuraminidasa (N). Estas variaciones se conocen como *antigenic shift* y se produce cada 2 o 3 décadas. Cuando emerge alguna de estas variaciones y afecta a una población susceptible sin inmunidad se inicia una epidemia con la subsecuente expansión y posterior pandemia. Se

conoce como “deslizamiento antigénico” al fenómeno resultante de variaciones menores, más frecuentemente en epítopes de la hemaglutinina. Estos mutantes son seleccionados por las personas inmunizadas. Del mismo modo, nuevas variaciones menores del subtipo A durante una pandemia puede generar brotes intrapandémicos (5). Así mismo, pueden coexistir simultáneamente subgrupos de Influenza A, como ha ocurrido desde el año 2009 con la Influenza A(H1N1) pandémica y la Influenza A (H3N2). Desde 1510 se han descrito más de una treintena de epidemias o pandemias siendo la más grave la ocurrida en 1918 por la Influenza H1N1 (46–48), aunque dicha mortalidad, en gran medida, fue secundaria a coinfección bacteriana en una época pre-antibiótica. Posteriormente se extendió la Gripe Asiática denominada así por su origen en Pekín en el año 1957, en este caso por la Influenza A(H2N2)(49). Poco después, en 1968 el virus de la influenza A(H3N2) generó la tercera y última gran pandemia del siglo XX, denominada Gripe de Hong Kong por su probable origen en China. La influenza A (H3N2) se generó por una mutación de procedencia aviar (50). La última pandemia producida por un virus de la Influenza fue en el año 2009 por el subgrupo A (H1N1) (51). Una de las principales diferencias respecto a la Gripe Española es su origen porcino. Durante el invierno 1969-1979 se constata un aumento de mortalidad en EUA atribuible a la influenza A H3N2 estimada en más de 100.000 personas y de 1 millón en todo el mundo. Es destacable que La Influenza A H3N2 afectó de manera desproporcionada a los menores con edades comprendidas entre los de 10 a 14 años mientras que la Influenza A H1N1 a pacientes jóvenes de mediana edad, sin comorbilidades sociadas, a embarazadas y a personas obesas. La coinfección bacteriana también ha sido descrita en estas últimas pandemias, aunque sin la mortalidad asociada a la Gripe Española. (52,53) (54).

1.2.2 Co-infección neumocócica en pacientes críticos con neumonía viral primaria por Influenza A(H1N1)pdm09.

La identificación de la coinfección bacteriana en los pacientes graves ingresados por Influenza A es de vital importancia para poder iniciar una antibioticoterapia empírica precoz y adecuada con el objetivo de mejorar el pronóstico de estos pacientes (55). En ocasiones, la identificación de esta coinfección puede llegar a ser difícil debido a la superposición de síntomas de ambas patologías.

Las interacciones microbiológicas entre la influenza y las bacterias que causan la coinfección fueron descritas por primera vez en la pandemia de influenza de 1918 (56,57), así como en posteriores pandemias (58). Los principales gérmenes implicados en esta coinfección son el *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Staphylococcus aureus*.

Los mecanismos subyacentes implicados en la coinfección son diversos. El daño directo del epitelio respiratorio junto con la disfunción mucociliar conduce a la pérdida de la función de barrera que facilita la adherencia e invasión de bacterias. La disfunción de neutrófilos, incluida la reducción de la fagocitosis y la secreción de lisozima contribuyen al aumento de la susceptibilidad a la colonización e infección bacteriana. También se produce una reducción de la producción de factor estimulante de colonias de granulocitos que contribuye a desencadenar la disfunción de neutrófilos inducida por la actividad de mieloperoxidasa (59). Por otra parte, la infección por Influenza provoca una disregulación inmunológica tanto en la respuesta innata como en la adaptativa, lo cual aumenta la susceptibilidad a infecciones secundarias por otros patógenos. Se han descrito numerosos mecanismos que interviene en esta disregulación inmunológica. Por una parte, existe una producción aumentada de mediadores proinflamatorios como TNF-alfa, y las interleucinas IL-1b, IL-6 e IL-18, lo que conduce a un estado “hiperinflamatorio” que causa lesión pulmonar aguda y edema conocido como Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo (SDRA). Concomitantemente, también se

observa una alteración de la respuesta adaptativa, que incluye a una alteración de la función de las células dendríticas, las células B y la maduración de células T(60). Actualmente, varias líneas de investigación se centran en moléculas que puedan atenuar diferentes componentes o vías de esta respuesta hiperinflamatoria. En concreto, se ha publicado un trabajo en el que se emplean anticuerpos inhibidores de IL-10 en la coinfección por *S. pneumoniae* con resultados dispares.

La coinfección bacteriana se ha asociado a un peor pronóstico tanto en términos de mortalidad como en prolongación de estancia hospitalaria y en los costes asociados. Es importante remarcar que en la mayoría de estudios publicados existe una asociación entre la coinfección bacteriana y la presencia de comorbilidad (61) por lo que existe un importante factor de confusión en la contribución de la comorbilidad en la mortalidad de la influenza con coinfección bacteriana.

1.2.3 Significancia clínica del aislamiento de *Aspergillus spp.* en el paciente crítico con Influenza A (H1N1)pdm09

La actual definición de Aspergilosis Broncopulmonar Invasiva (API) se basan en las recomendaciones del grupo de consenso EORTC / MSG que clasifican a los pacientes en enfermedad fúngica invasiva probada, probable y posible. La API probada se basa en el examen histopatológico del tejido pulmonar. La definición de API probable requiere inmunosupresión del huésped, signos radiográficos específicos y evidencia micológica como aislamiento de la hifa en cultivo respiratorio galactomanano positivo. Esta clasificación fue diseñada atendiendo a pacientes severamente inmunocomprometidos, pero no parece aplicable a pacientes inmunocompetentes críticamente enfermos ingresados en las UCI's.

La API relacionada con la infección por Influenza se ha descrito tanto en pacientes inmunodeprimidos (62) como inmunocompetentes, estos últimos especialmente asociado al

uso de corticoterapia (63,64). Los pacientes graves ingresados en UCI presentan alteraciones en la inmunoregulación como consecuencia de su estado crítico que los hace más vulnerables a la adquisición de la infección fúngica. A ello contribuyen factores de riesgo bien descritos en la literatura como son la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC), el uso prolongado de corticoides, la insuficiencia hepática, insuficiencia renal aguda con terapias de depuración extrarenal , el síndrome de disfunción multiorgánica, la diabetes mellitus y por supuesto cualquier estado de inmunodeficiencia.

Una reciente revisión sistemática estima la mortalidad de la API en pacientes con Influenza en un 47% (65).

1.2.4 Diferencias de mortalidad entre la infección por Influenza A H1N1pdm09 y SARS-CoV-2 en el paciente crítico.

En diciembre de 2019, el nuevo coronavirus, Síndrome Respiratorio Agudo Severo Coronavirus 2 (SARS-CoV-2), surgió en Wuhan (China), y se propagó rápidamente por todo el mundo. La OMS denominó a la enfermedad clínica producido por SARS-CoV-2 como Enfermedad por Coronavirus-2019 (COVID-19) que al igual que la infección por Influenza A puede causar una enfermedad respiratoria grave o Síndrome de Dificultad Respiratoria Aguda (SDRA). En septiembre de 2020, la OMS ya había declarado más de 32 millones de casos en todo el mundo y 980.031 fallecidos. La COVID-19 comparte muchas similitudes con otras neumonías virales, incluyendo la ruta de infección, la presentación clínica respiratoria y las altas tasas de mortalidad asociadas con la enfermedad grave. Por lo tanto, se ha utilizado la neumonía grave por influenza como comparación con la neumonía asociada a COVID-19 (66,67). Comparar las características clínicas y resultados de los pacientes críticamente enfermos ingresados en la unidad de cuidados intensivos (UCI) por COVID-19 en comparación con aquellos ingresados debido a neumonía por Influenza A pandémica presenta

un gran interés científico, no solo para la comprensión del curso clínico de la enfermedad grave, sino también para diseñar estrategias epidemiológicas que nos preparen para futuros brotes (68). El objetivo de nuestro estudio ha sido comparar las diferencias en el pronóstico vital de los pacientes críticamente enfermos ingresados en la unidad de cuidados intensivos (UCI) debido a la COVID-19 en comparación con aquellos ingresados por neumonía viral por Influenza A (H1N1)pdm09.

2. Hipótesis

La Influenza A pandémica (H1N1)pdm09 presenta diferencias clínicas y mayor gravedad respecto a otras cepas como la A(H3N2). Existe una asociación entre la infección primaria por virus de la Influenza A(H1N1)pdm09 y la coinfección por neumococo, sin embargo aún no está establecida la relevancia clínica del aislamiento de *Aspergillus spp* en los pacientes ingresados en UCI por Influenza A. Por último, la mortalidad de los pacientes ingresados en UCI por neumonía viral por virus pandémico Influenza A(H1N1)pdm09 es diferente respecto a la provocada por la nueva pandemia de SARS_CoV2.

3. Objetivos

3.1. Objetivo principal

Describir las características clínicas y pronóstico de la infección por Influenza A(H1N1)pdm09 en el paciente crítico.

3.2. Objetivos secundarios

1. Describir las diferencias clínicas entre la infección por Influenza A(H1N1)pdm09 e Influenza A(H3N2) en el paciente crítico ingresado en UCI.
2. Valorar la incidencia, características clínicas y pronóstico de la coinfección por neumococo en el paciente ingresado en UCI con Influenza A(H1N1)pdm09.
3. Describir las características clínicas y demográficas de los pacientes con aislamiento de *Aspergillus* en la neumonía viral primaria por influenza A (H1N1)pdm09 grave que requieren ventilación mecánica invasiva.
4. Evaluar diferencias en la mortalidad entre la infección por el virus pandémico Influenza A(H1N1)pdm09 y la nueva pandemia por SARS-CoV-2.

4. Metodología

Inicialmente se plantearon tres estudios para valorar la hipótesis enunciada respecto a la diferencias entre las cepas de Influenza A(H1N1)pdm09 e Influenza A(H3N2) en el paciente crítico, la co-infección con neumonoco y el aislamiento de *Aspergillus spp.* Durante el desarrollo de la presente Tesis irrumpió la pandemia por COVID-19 que desplazó por completo al resto de virus respiratorios incluyendo a la Influenza A. Se consideró en ese momento completar la Tesis con un cuarto estudio mediante el análisis de las diferencias en la mortalidad entre la Influenza A(H1N1)pdm09 y el SARS-CoV-2.

4.1 Estudio 1. Diferencias clínicas entre la infección por Influenza A (H1N1)pdm09 e Influenza A(H3N2) en el paciente crítico

Diseño. Estudio multicéntrico, observacional, prospectivo, de cohortes.

Ámbito. Han colaborado 148 UCI's que han incluido datos de pacientes diagnosticados de gripe A en el registro del Grupo Español de Trabajo de Gripe A Grave de la Sociedad Española de Medicina Intensiva, Crítica y Unidades Coronarias (GETGAG/SEMICYUC) entre los años 2009-2018, ambos incluidos. La identificación de los pacientes permaneció anonimizada y no se solicitó consentimiento informado atendiendo al carácter retrospectivo del estudio. El registro GETGAG/SEMICYUC fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital Joan XXIII de Tarragona y el análisis del presente estudio por el CEIC del Hospital Universitario Mutua Terrassa.

Criterios de inclusión: Se incluyeron todos los pacientes con infección respiratoria en los que se identificó el virus influenza A (H1N1)pdm09 mediante real time polymerase chain reaction (rt-PCR) que fue realizada de acuerdo con las recomendaciones del CDC (69). Las

manifestaciones clínicas incluyeron dos o más de los siguientes signos y síntomas: fiebre ($>38^{\circ}\text{C}$), tos, expectoración bronquial y mialgias asociados a signos clínicos de fracaso de un órgano o sistema como de insuficiencia respiratoria, inestabilidad hemodinámica o trastornos de consciencia. La información fue facilitada por los médicos de las UCI participantes en base a la historia clínica y los datos de laboratorio y radiología. Los pacientes incluidos en el estudio se clasificaron en dos grupos: Un primer grupo pacientes con Influenza A (H1N1)pdm 09 y un segundo grupo en el que se incluyeron pacientes con Influenza A estacional (H3N2).

Criterios de exclusión: Los pacientes menores de 18 años no fueron incluidos en el registro. Se descartaron los pacientes diagnosticados de infección por virus de Influenza B y aquellos en los que no se pudo identificar el serotipo de virus de influenza A.

Cuaderno de recogida de datos (CRD): Para la recogida de datos se diseñó un CRD en el que se han incluido variables demográficas (edad, sexo), temporales (tiempo de ingreso en el hospital e ingreso en UCI, tiempo ingreso hospital y diagnóstico de gripe A, tiempo de estancia en UCI y en el hospital), comorbilidades, gravedad al ingreso, forma de presentación de la infección, tratamientos administrados (oseltamivir, drogas inotrópicas, corticoides, ventilación mecánica) y mortalidad intraUCI. Para determinar la severidad de la infección se utilizó el Acute Physiology And Chronic Health Evaluation (APACHE) II (70) que fue calculado en las primeras 24 horas de ingreso y para determinar el grado de fallo de órganos se utilizó el Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) (71) al ingreso. Las definiciones de neumonía comunitaria se han basado en las recomendaciones de la American Thoracic Society and Infectious Disease Society of America (72).

Análisis estadístico. Las variables categóricas se describen como porcentaje de cada categoría y las continuas como medias y desviación estándar o medianas y rango intercuartil. Para analizar las diferencias entre los grupos de Influenza A (H1N1) frente A (H3N2) se utilizaron el Chi-cuadrado y el test exacto de Fisher para las variables categóricas y Student's-

Test o Mann-Whitney para las variables continuas. En todos los análisis se consideró estadísticamente significativa una $p < 0,05$. Los datos fueron analizados utilizando el paquete informático SPSS para Windows 15.0 (SPSS, Chicago, IL,US).

4.2 Estudio Co-infección neumocócica en pacientes críticos con neumonía viral primaria por Influenza A(H1N1)pdm09

Diseño. Estudio multicéntrico, observacional, prospectivo, de cohortes.

Ámbito. Han colaborado 148 UCI's que han incluido datos de pacientes diagnosticados de gripe A en el registro del Grupo Español de Trabajo de Gripe A Grave de la Sociedad Española de Medicina Intensiva, Crítica y Unidades Coronarias (GETGAG/SEMICYUC) entre los años 2009-2015, ambos incluidos. La identificación de los pacientes permaneció anonimizada y no se solicitó consentimiento informado atendiendo al carácter retrospectivo del estudio. El registro GETGAG/SEMICYUC fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital Joan XXIII de Tarragona y por cada uno de los CEIC de los hospitales participantes.

Criterios de inclusión: Se incluyeron todos los pacientes con infección respiratoria en los que se identificó el virus influenza A (H1N1)pdm09 mediante real time polymerase chain reaction (rt-PCR) que fue realizada de acuerdo con las recomendaciones del CDC (69). Los pacientes incluidos en el estudio se clasificaron en dos grupos: a) pacientes ingresados en UCI por neumonía viral primaria sin evidencia de co-infección bacteriana b) pacientes ingresados en UCI por neumonía viral primaria por Influenza A (H1N1)pdm09 y co-infección bacteriana por *Streptococcus pneumoniae* (SpCoI). La información fue facilitada por los médicos de las UCI participantes en base a la historia clínica y los datos de laboratorio y radiología.

Criterios de exclusión: Los pacientes menores de 18 años no fueron incluidos en el registro. Se descartaron los pacientes diagnosticados de infección por virus de Influenza A estacional

(no pandémica), Influenza B y aquellos en los que no se pudo identificar el serogrupo de virus de influenza.

Cuaderno de recogida de datos (CRD): Para la recogida de datos se diseñó un CRD en el que se han incluido variables demográficas (edad, sexo), temporales (tiempo de ingreso en el hospital e ingreso en UCI, tiempo ingreso hospital y diagnóstico de gripe A, tiempo de estancia en UCI y en el hospital), comorbilidades, gravedad al ingreso, forma de presentación de la infección, tratamientos administrados (oseltamivir, drogas inotrópicas, corticoides, ventilación mecánica) y mortalidad intraUCI. Para determinar la severidad de la infección se utilizó el Acute Physiology And Chronic Health Evaluation (APACHE) II (70) que fue calculado en las primeras 24 horas de ingreso y para determinar el grado de fallo de órganos se utilizó el Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) (71) al ingreso. Las definiciones de neumonía comunitaria se han basado en las recomendaciones de la American Thoracic Society and Infectious Disease Society of America (72).

Análisis estadístico. Las variables categóricas se describen como porcentaje de cada categoría y las continuas como medias y desviación estándar o medianas y rango intercuartil. Para analizar las diferencias entre el grupo de Influenza A(H1N1)pdm09 sin co-infección bacteriana frente a SpCoI se utilizaron el Chi-cuadrado y el test exacto de Fisher para las variables categóricas y Student's-Test o Mann-Whitney para las variables continuas. Se realizó análisis de curvas *receiver operating characteristic* (ROC), para co-infección neumocócica con las variables PCT, PCR y lactato. En todos los análisis se consideró estadísticamente significativa una $p < 0,05$. Los datos fueron analizados utilizando el paquete informático SPSS para Windows 15.0 (SPSS, Chicago)

4.3 Significancia clínica en el aislamiento de *Aspergillus spp.* en el paciente crítico con Influenza A (H1N1)pdm09.

Diseño. Estudio multicéntrico, observacional, prospectivo, de cohortes.

Ámbito. Han colaborado 148 UCI's que han incluido datos de pacientes diagnosticados de gripe A en el registro del Grupo Español de Trabajo de Gripe A Grave de la Sociedad Española de Medicina Intensiva, Crítica y Unidades Coronarias (GETGAG/SEMICYUC) entre los años 2009-2015, ambos incluidos. La identificación de los pacientes permaneció anonimizada y no se solicitó consentimiento informado atendiendo al carácter retrospectivo del estudio. El registro GETGAG/SEMICYUC fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital Joan XXIII de Tarragona y el análisis del presente estudio por el CEIC del Hospital Universitario Mutua Terrassa.

Criterios de inclusión: Se incluyeron todos los pacientes con infección respiratoria en los que se identificó el virus influenza A (H1N1)pdm09 mediante real time polymerase chain reaction (rt-PCR) que fue realizada de acuerdo con las recomendaciones del CDC (69). Las manifestaciones clínicas incluyeron dos o más de los siguientes signos y síntomas: fiebre (>38°C), tos, expectoración bronquial y mialgias asociados a signos clínicos de fracaso de un órgano o sistema como de insuficiencia respiratoria, inestabilidad hemodinámica o trastornos de consciencia. La información fue facilitada por los médicos de las UCI participantes en base a la historia clínica y los datos de laboratorio y radiología. Los pacientes incluidos en el estudio se clasificaron en dos grupos de acuerdo con la presencia de aislamiento de *Aspergillus* en vía respiratoria: a) pacientes ingresados en UCI por neumonía viral primaria por virus influenza A (H1N1)pdm09 bajo ventilación mecánica invasiva y sin evidencia de co-infección bacteriana o fúngica (ISC), b) pacientes ingresados en UCI por neumonía viral primaria por virus influenza A (H1N1)pdm09 bajo ventilación mecánica invasiva y aislamiento de *Aspergillus spp.* en muestras respiratorias (ICA).

Criterios de exclusión: Los pacientes menores de 15 años no fueron incluidos en el registro. Se descartaron los pacientes no sometidos a ventilación mecánica invasiva, los diagnosticados de gripe A (H3N2), gripe B, así como los diagnosticados de gripe A (H1N1)pdm09 a partir de los 7 días de ingreso en el hospital.

Cuaderno de recogida de datos (CRD): Para la recogida de datos se diseñó un CRD en el que se han incluido variables demográficas (edad, sexo), temporales (tiempo de ingreso en el hospital e ingreso en UCI, tiempo ingreso hospital y diagnóstico de gripe A, tiempo de estancia en UCI y en el hospital), comorbilidades, gravedad al ingreso, forma de presentación de la infección, tratamientos administrados (oseltamivir, drogas inotrópicas, corticoides, ventilación mecánica) y mortalidad intraUCI. Para determinar la severidad de la infección se utilizó el Acute Physiology And Chronic Health Evaluation (APACHE) II (70) que fue calculado en las primeras 24 horas de ingreso y para determinar el grado de fallo de órganos se utilizó el Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) (71) al ingreso. Las definiciones de neumonía comunitaria se han basado en las recomendaciones de la American Thoracic Society and Infectious Disease Society of America (72).

Análisis estadístico. Las variables categóricas se describen como porcentaje de cada categoría y las continuas como medias y desviación estándar o medianas y rango intercuartil. Para analizar las diferencias entre los grupos de neumonía por Influenza A (H1N1)pdm09 sin coinfección (ISC) frente a aquellos que presentaron aislamiento de *Aspergillus* (ICA) se utilizaron el Chi-cuadrado y el test exacto de Fisher para las variables categóricas y Student's-Test o Mann-Whitney para las variables continuas. Para identificar los factores relacionados de forma independiente con mortalidad en los pacientes ICA ingresados en UCI se aplicó la regresión de Cox. Los resultados se presentan como Odds Ratio (OR) e intervalos de confianza 95% (IC). En todos los análisis se consideró estadísticamente significativa una

$p < 0,05$. Los datos fueron analizados utilizando el paquete informático SPSS para Windows 15.0 (SPSS, Chicago, IL,US).

4.4 Diferencias de mortalidad entre la infección por Influenza A H1N1pdm09 y SARS-CoV-2 en el paciente crítico.

Diseño. Estudio multicéntrico, observacional, prospectivo, de cohortes.

Ámbito. Han colaborado 148 UCI's que han incluido datos de pacientes diagnosticados de gripe A en el registro del Grupo Español de Trabajo de Gripe A Grave de la Sociedad Española de Medicina Intensiva, Crítica y Unidades Coronarias (GETGAG/SEMICYUC) entre los años 2009-2015 y un total de 73 UCI's (71 en España, 1 en Andorra, y 1 en Irlanda) que incluyeron pacientes diagnósticos de COVID-19 entre el 22 de Febrero de 2020 y 21 1 Marzo de 2021 a través del registro de COVID-19 de la SEMICYUC. La identificación de los pacientes permaneció anonimizada y no se solicitó consentimiento informado atendiendo al carácter retrospectivo del estudio. Tanto el registro GETGAG/SEMICYUC como el refistro COVID-19 fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital Joan XXIII de Tarragona y los comités locales de cada hospital participante.

Criterios de inclusion: En el registro GETGAG/SEMICYUC se incluyeron todos los pacientes con infiltrados pulmonares e infección respiratoria por influenza A (H1N1)pdm09 confirmada mediante real time polymerase chain reaction (rt-PCR) realizada de acuerdo con las recomendaciones del CDC (69). En el registro COVID-19 se incluyeron a todos los pacientes con infiltrados pulmonares por COVID-19 con una prueba confirmatoria positiva de rt-PCR para SARS-CoV-2 realizada según las recomendaciones de consenso(73). La información fue facilitada por los médicos de las UCI participantes en base a la historia clínica y los datos de laboratorio y radiología. Los pacientes incluidos en el estudio se clasificaron

en dos grupos: a) pacientes ingresados en UCI por neumonía viral primaria por virus influenza A (H1N1)pdm09 b) pacientes ingresados en UCI por neumonía viral primaria por SARS-CoV-2.

Criterios de exclusión: Los pacientes menores de 15 años no fueron incluidos en el registro. Se excluyeron todos los pacientes con otros subtipos diferentes a la Influenza A H1N1 pandémica, tales como A (H3N2), Influenza B o Influenza no tipificada en el hospital.

Cuaderno de recogida de datos (CRD): Para la recogida de datos se diseñó un CRD en el que se han incluido variables demográficas (edad, sexo), temporales (tiempo de ingreso en el hospital e ingreso en UCI, tiempo ingreso hospital y diagnóstico de gripe A, tiempo de estancia en UCI y en el hospital), comorbilidades, gravedad al ingreso, forma de presentación de la infección, tratamientos administrados (oseltamivir, drogas inotrópicas, corticoides, ventilación mecánica) y mortalidad intraUCI y hospitalaria. Para determinar la severidad de la infección se utilizó el Acute Physiology And Chronic Health Evaluation (APACHE) II (70) que fue calculado en las primeras 24 horas de ingreso y para determinar el grado de fallo de órganos se utilizó el Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) (71) al ingreso.

Análisis estadístico. Análisis univariable. Las variables categóricas se expresan como frecuencias y porcentajes, y las variables continuas como media y desviación estándar (SD) cuando los datos siguieron una distribución normal, o como mediana y rango intercuartílico (RIQ=percentil 25 - percentil 75) cuando la distribución se alejó de la normalidad. Los porcentajes se compararon, según corresponda, utilizando la prueba de Chi-cuadrado (χ^2) o la prueba exacta de Fisher, las medias mediante la prueba t y las medianas mediante la prueba de Wilcoxon para datos independientes.

Emparejamiento. Se realizó un análisis de emparejamiento 1 a 1 sin reemplazo en base a la puntuación de propensión estimada (PS) de cada paciente. Según Rosenbaum y Rubin (1983)(74), definimos la PS como la probabilidad condicional de que un paciente pertenezca a la cohorte de SARS-CoV-2 dado un conjunto de covariables. Dado que nuestro propósito es encontrar, para cada paciente de Sars-CoV-2, un paciente Influenza A(H1N1)pdm09 que sea similar en edad, sexo y comorbilidades, hemos introducido este conjunto como covariables. Las probabilidades se estimaron utilizando regresión logística aditiva, que modela los efectos de las variables numéricas a través de funciones que eventualmente pueden ser no lineales (Hastie y Tibshirani, 1995)(75). El calibre (distancia máxima dentro de la cual se permiten emparejamientos basados en la PS) elegido fue de 0.5. Después del emparejamiento por puntuación de propensión, las características basales se compararon con las pruebas de McNemar para variables binarias y las pruebas t o de Wilcoxon, según corresponda, para variables continuas, ambas para datos emparejados. Además, evaluamos el éxito del emparejamiento por puntuación de propensión para equilibrar covariables en los dos grupos utilizando diferencias estandarizadas. Las diferencias estandarizadas inferiores al 10% respaldan la suposición de equilibrio entre los 2 grupos (76).

Regresión logística condicional. El método analítico para estimar el efecto de la cohorte y su significancia estadística en las tasas de mortalidad debe tener en cuenta el diseño emparejado en la muestra emparejada por puntuación de propensión. Para este propósito, utilizamos regresión logística condicional, que se basa en una función de verosimilitud que tiene en cuenta el emparejamiento. El modelo se resume mediante *odds ratio*, que se estimó mediante intervalo de confianza del 95% (IC del 95%). La significancia estadística se estableció en $p < 0.05$. Los datos se analizaron utilizando el paquete R, versión 3.6.1 (R Development Core Team, 2019).

5. Resultados

Los resultados de los estudios que integran esta Tesis Doctoral se presentan a continuación:

5.1 Diferencias clínicas entre la infección por Influenza A (H1N1)pdm09 e Influenza A(H3N2) en el paciente crítico.

De los 2898 pacientes en los que se confirmó infección por virus de Influenza, 110 pacientes fueron excluidos del estudio, 56 por Influenza B y 54 por influenza A sin tipificación de serotipo. En total, 2421 pacientes con Influenza A(H1N1)pdm09 se compararon con 367 pacientes con Influenza A (H3N2) (Ilustración 1).

Los pacientes con A(H1N1) fueron significativamente más jóvenes (50 [38-61] vs 61 [50-73], $P = 0.001$), presentaron una mayor disfunción multiorgánica (61,2% vs 55,4%, $P < 0.038$), y requirieron en mayor proporción asistencia ventilatoria invasiva (70,6% vs 65,1%, $P < 0.046$), con insuficiencia respiratoria más grave que precisó una mayor proporción de decúbito prono (18,9% vs 13,0%, $P < 0.007$). Los pacientes con infección por Influenza A(H3N2) presentaban mayor comorbilidad: EPOC (30,4% vs 19,5%, $P < 0.001$), insuficiencia cardíaca (18,6% vs 10,0%, $P < 0.001$), insuficiencia renal crónica (14,5% vs 7,6%, $P < 0.001$), y diabetes (23,9% vs 15,3%, $P < 0.001$). Así mismo los pacientes con A(H3N2) presentaron una mayor proporción de coinfección bacteriana (26,5% vs 14,4%, $P < 0.001$), así como una tasa de vacunación previa muy superior (23,5% vs 5,7%, $P < 0.001$). Los pacientes con Influenza A(H1N1) tuvieron una estancia en UCI superior, aunque

posteriormente no hubo diferencias en la estancia hospitalaria. Finalmente, no se ha observado diferencias en la mortalidad hospitalaria entre ambos grupos (Tabla 1).

Ilustración 1: Diagrama de distribución de los casos de pacientes ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos con Infección por virus Influenza A(H1N1)pdm09 versus Influenza A (H3N2)

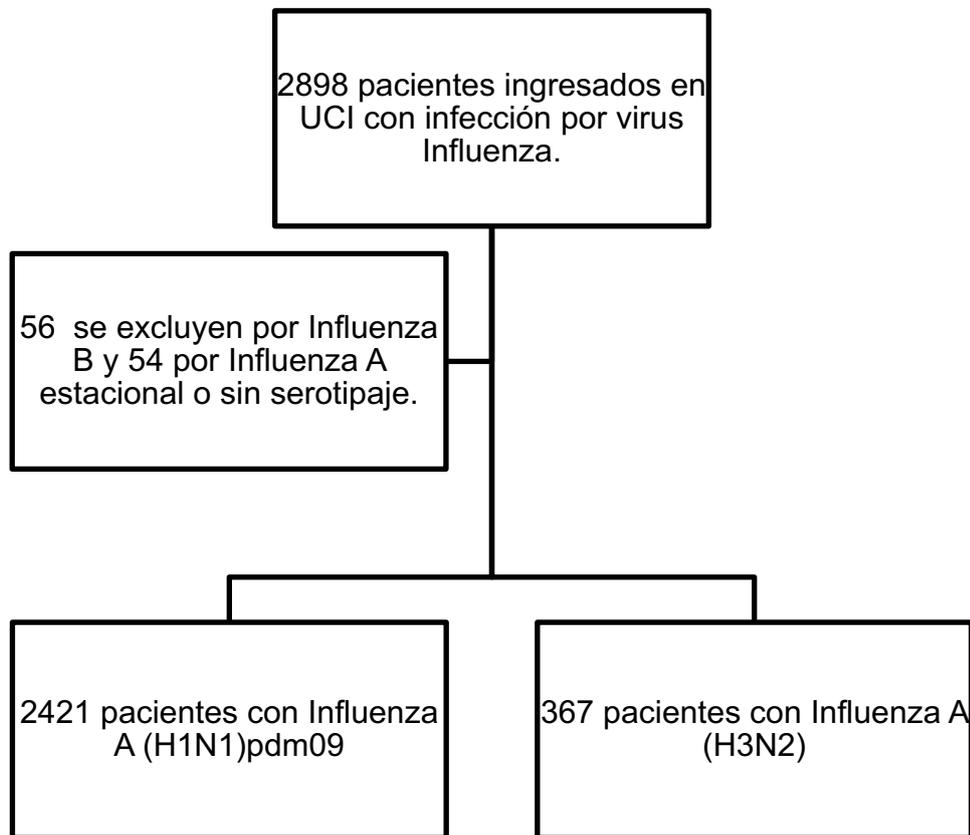


Tabla 1: Comparison of Demographic and Clinical Characteristics Among Patients With Influenza A(H1N1) versus Influenza A(H3N2).

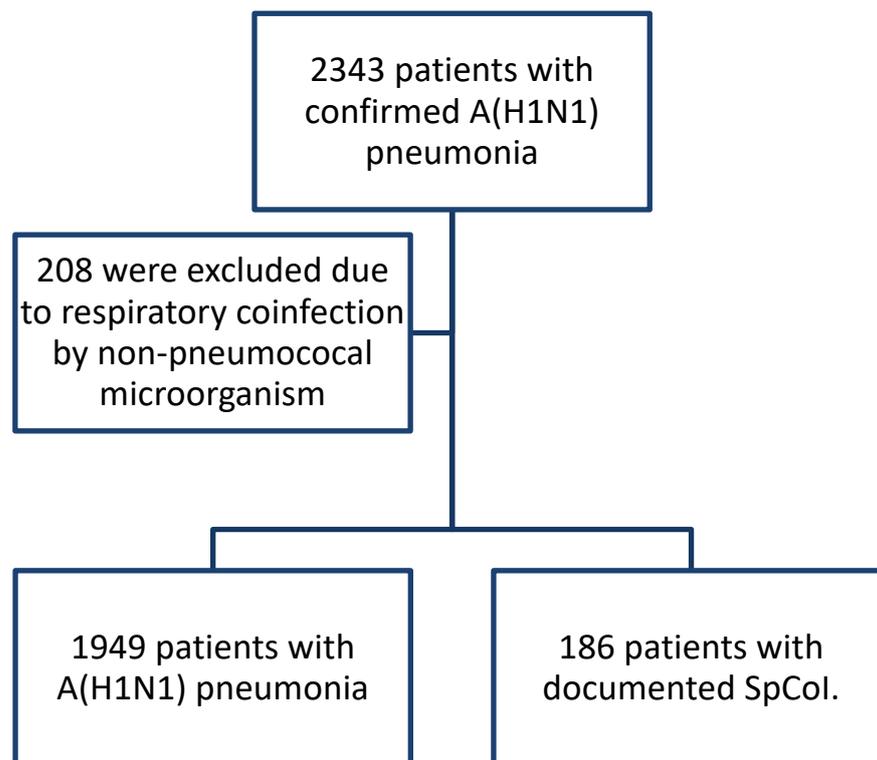
Variables	Overall (n=2788)	Influenza A(H1N1) (n=2421)	Influenza A(H3N2) (n=367)	p
Demographics				
Age, years, mean (SD)	52 (39-63)	50 (38-61)	61 (50-73)	<0.001
Male sex, n (%)	1644 (59.1)	1420 (58,8)	224 (61,0)	0,427
Severity of illness				
APACHE II score at ICU admission ^a	15 (11-20)	15 (10-20)	18 (13-25)	<0.001
SOFA score at ICU admission ^a	5 (3-8)	5 (3-8)	6 (3-9)	0.735
Comorbidities, n (%)				
Comorbidities n (%)	2062 (74.7)	1767 (73.7)	295 (80.8%)	0.014
Asthma , n (%)	277 (10.0)	241 (10.1)	36 (9.9)	0.910
COPD, n (%)	579 (21.0)	468 (19.5)	111 (30.4)	<0.001
Heart failure, n (%)	307 (11.1)	239 (10.0)	68 (18.6)	<0.001
Chronic renal disease , n (%)	235 (8.5)	182 (7.6)	53(14.5)	<0.001
Hematologic malignancy, n (%)	190 (6.9)	168 (7.0)	22 (6.0)	0.490
Pregnancy, n (%)	109 (3.9)	98 (4.1)	11 (3.0)	0.326
Obesity , n (%)	935 (33.9)	844 (35.2)	91 (24.9)	<0.001
Obesity BMI>40, n (%)	393 (14.2)	344 (14.4)	49 (13.4)	0.633
Obesity BMI>30, n (%)	542 (19.6)	499 (20.8)	43 (11.8)	<0.001
Diabetes mellitus, n (%)	454 (16.5)	367 (15.3)	87 (23.9)	<0.001
HIV infection, n (%)	67 (2.4)	56 (2.3)	11 (3.0)	0.434
Neuromuscular disease, n (%)	72 (2.6)	63 (2.6)	9 (2.5)	0.855
Autoimmune disorders , n (%)	95 (3.4)	84 (3.5)	11 (3.0)	0.630
Immunodeficiency	297 (10.8)	271 (11.3)	26 (7.1)	0.016
Clinical characteristics				
Days from symptoms onset to hospital admission ^a	4 (2-6)	4 (2-6)	3 (2-6)	0,027
Days from hospital admission to diagnosis ^a	2 (1-5)	2 (1-5)	2 (1-3)	0.010
Days from hospitalization to ICU admission ^a	1 (1-2)	1 (1-2)	1(1-2)	0,007
Vaccinated, n(%)	221 (8.0)	135 (5.7)	86 (23.5)	<0.001
Antibiotic treatment first day in ICU, n(%)				
Pulmonary infiltrates, n (%)				

Variables	Overall (n=2788)	Influenza A(H1N1) (n=2421)	Influenza A(H3N2) (n=367)	p
Bacterial Pneumonia at ICU admission	508 (18.5)	415 (17.4)	93 (26.5)	<0.001
COPD exacerbation	183 (6.7)	143 (6.0)	40 (11.4)	<0.001
Oseltamivir	2421 (97.0)	2100 (97.8)	321 (92.0)	<0.001
Laboratory values^a				
LDH	596 (370-960)	611 (384-977)	481 (323-699,75)	<0.001
TGO	51 (31-94.5)	57 (38-114)	65 (33-87)	0.947
TGP	38 (22-77)	44 (25-84)	36 (30-45)	0.805
CPK	174 (77-478.75)	181 (78-486,50)	163 (75-419)	0,473
Leucocytes	8010 (4500-12700)	7600 (4400-12300)	9850 (6162,50-14377,50)	<0.001
Platelets	161000 (119000-223750)			
Creatinine	0,92 (0,70-1,40)	0,90 (0,70-1,40)	1,10 (0,77-1,66)	<0.001
Urea	41,00 (27,00-67,00)	39,00 (26,00-64,00)	52,00 (34,00-78,00)	<0.001
Procalcitonin	0,69 (0,21-3,00)	0,67 (0,20-2,79)	0,89 (0,28-5,93)	0.041
PCR	27,20 (13,70-87,95)	26,70 (12,70-85,00)	36,63 (12,45-110,60)	0.200
Fibrinogen	558,50 (440,75-671,50)			
Complications				
Mechanical ventilation	2098 (78.7)	1804 (77.9)	294 (83.5)	0.017
Invasive MV	1680 (69.9)	1475 (70.6)	205 (65.1)	0.046
Days of invasive mechanical ventilation ^a	8 (3-17)	9 (3-17)	6 (3-15)	0,017
Non-invasive mechanical ventilation, n (%)	974 (40.6)	807 (38.7)	167 (53.0)	<0.01
Fracaso de la VNI	557 (26.2)	481 (25.5)	76 (31.7)	0.042
MODS, n (%)	1665 (60.4)	1465 (61.2)	200 (55.4)	0.038
Vasopressors, n (%)	1466 (53.2)	1270 (53.1)	196 (54.3)	0.664
Prone positioning, n (%)	499 (18.1)	452 (18.9)	47 (13.0)	0.007
Corticosteroids, n (%)	1050 (42.9)	902 (43.0)	148 (42.3)	0.816
Acute Kidney Injury, n (%)	657 (26.5)	552 (25.9)	105 (30.3)	0.084
Renal Replacement Therapy, n (%)	300 (11.8)	261 (11.9)	39 (11.3)	0.749
Intermittent Hemodialysis, n (%)	139 (5.5)	117 (5.3)	22 (6.4)	0.429
Continuous Renal Replacement Therapy, n (%)	270 (10.6)	235 (10.7)	35 (10.1)	0.749
Hospital-acquired pneumonia, n (%)	168 (6.2)	154 (6.5)	14 (4.0)	0.070
Healthcare worker	36 (1.3)	30 (1.3)	6 (1.6)	0.553
Outcome				
Days to death	10 (4-19)	10 (4-19)	9.5 (4-21)	0.712
ICU length of stay (days) ^a	11 (5-21)	11 (5-21)	8 (4-19)	<0.001
Hospital length of stay (days) ^a	18 (10-30)	18 (10-30)	16 (10-27)	0.159
Overall mortality, no. (%)	572 (22.2)	490 (21.9)	82 (24.2)	0.337

5.2 Co-infección neumocócica en pacientes críticos con neumonía viral primaria por Influenza A(H1N1)pdm09.

De los 2343 pacientes con neumonía confirmada por A(H1N1), se excluyeron 208 debido a coinfección respiratoria por microorganismos no neumocócicos. En total, se compararon 1949 pacientes con neumonía por A(H1N1) con 186 pacientes con SpCoI documentada (incidencia= 8.7%). (Ilustración 2)

Ilustración 2: Diagrama de distribución de los casos de Influenza A(H1N1)pdm09 ingresados en UCI en función de la coinfección SpCoI.



Los pacientes con SpCoI presentaron un puntaje APACHE II más alto (14 [10-19] vs 17 [12-21.5], $P=0.001$) y un puntaje SOFA más alto (5 [3-8] vs 6 [4-9], $P=0.002$). Los pacientes con SpCoI tenían menos obesidad (36.8% vs 22.2%, $P < 0.001$). El VIH se presentó con más

frecuencia en pacientes con SpCoI (2.0% vs 4.3%, P=0.036). No se observaron otras diferencias en comorbilidades. Los pacientes con coinfección desarrollaron lesión renal aguda con más frecuencia (22.8% vs 32.4%, P=0.004), pero no se observaron diferencias en la terapia de reemplazo renal (10.8% vs 11.5%, P= 0.773). El shock que requiere vasopresores fue más frecuente en aquellos pacientes con SpCoI (49.7% vs 61.1%, P=0.003). No se observaron diferencias en la ventilación mecánica invasiva (68.8% vs 65.0%, P=0.211), la posición prona (18% vs 15.1%, P=0.331) o la estancia en la UCI. El área bajo la curva de la curva ROC presentó un poder discriminativo de la PCT en predecir la coinfección neumocócica entre los pacientes con Influenza A(H1N1) del 0,799 (IC95%: 0,756-0,842) (p<0,001) (Ilustración 3). Para valores de PCT<0.20 ng/mL mostró una sensibilidad del 83,2%, una especificidad del 35,6% y un elevado Valor Predictivo Negativo (VPN) del 90,1% para la presencia de coinfección neumocócica. La coinfección no se asoció con una mayor mortalidad en la UCI (19.5% vs 21.0%, P=0.627) (

Tabla 2).

Tabla 2: Comparison of Demographic and Clinical Characteristics Among Patients With and without pneumococcal coinfection

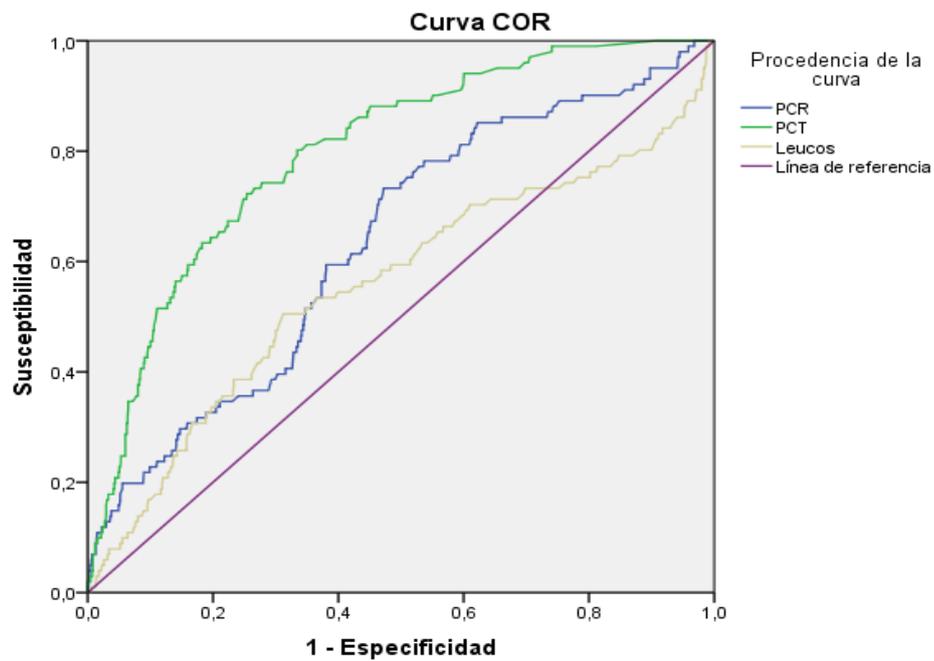
Variables	Overall (2135)	Only Influenza (n=1949)	Coinfection (n=186)	p
Demographics				
Age, years, mean (SD)	49.52 (±15.36)	49.35 (±15.41)	51.34 (±14.73)	0.092
Male sex, n (%)	1227 (57.7)	1120 (57.7)	107 (57.8)	0.965
Variables	Overall (2135)	Only Influenza (n=1949)	Coinfection (n=186)	p
Severity of illness				
APACHE II score at ICU admission ^a	14 (10-20)	14 (10-19)	17 (12-21.5)	0.001
SOFA score at ICU admission ^a	5 (3-8)	5 (3-8)	6 (4-9)	0.002
Comorbidities, n (%)				
Asthma, n (%)	218 (10.3)	195 (10.1)	23 (12.4)	0.321
COPD, n (%)	396 (18.7)	360 (18.7)	36 (19.5)	0.791

Heart failure, n (%)	199 (9.4)	187 (9.7)	12 (6.5)	0.154	
Chronic renal disease , n (%)	149 (7.1)	140 (7.3)	9 (4.9)	0.223	
Hematologic malignancy, n (%)	142 (6.7)	127 (6.6)	15 (8.1)	0.429	
Pregnancy, n (%)	94 (4.4)	90 (4.7)	4 (2.2)	0.135	
Obesity n (%)	751 (35.5)	710 (36.8)	41 (22.2)	<0.001	
Obesity BMI>40, n (%)	304 (14.4)	289 (15.0)	15 (8.1)	0.011	
ObesityBMI>30, n (%)	446 (21.1)	419 (21.8)	27 (14.6)	0.023	
Diabetes mellitus, n (%)	321 (15.2)	294 (15.3)	27 (14.6)	0.811	
HIV infection, n (%)	46 (2.2)	38 (2.0)	8 (4.3)	0.036	
Neuromuscular disease, n (%) ^{†††}	56 (2.7)	48 (2.5)	8 (4.3)	0.136	
Autoimmune disorders, n (%)	72 (3.4)	67 (3.5)	5 (2.7)	0.580	
Clinical characteristics					
Days from symptoms onset to hospital admission ^a	4 (2-6)	4 (2-6)	4 (2-5)	0.064	
Days from hospitalization to ICU admission ^a	1 (1-2)	1 (1-2)	1 (1-1)	<0.001	
Vaccinated, n(%) ^{†††}	109 (5.2)	97 (5.0)	12 (6.6)	0.648	
Antibiotic treatment first day in ICU, n(%)	2135 (100)	1949 (100)	186 (100)	1	
Laboratory values^a					
	CPK	185 (79-500.50)	192 (82-500.50)	133 (50.50-483.25)	0.051
	Leucocytes	7530 (4400-12100)	7500 (4400-11650)	9300 (4275-14150)	0.023
	Platelets	160000 (120000-224000)	161000 (120000-224000)	153000 (113250-220000)	0.300

	Creatinine	0.90 (0.68-1.32)	0,90 (0,68-1.3)	1,15 (0.70-1.64)	<0.001
	Urea	38 (25-60)	37 (25-59)	52 (31.50-80.50)	<0.001
	Procalcitonin	0.61 (0.20-2.46)	0.5 (0.19-1.89)	4.93 (1.15-15)	<0.001
	PCR	25.8 (13.52-81.55)	25 (12.96-81.50)	35.80 (23.10-87.76)	<0.001
	Fibrinogen	552.5 (44.75-668.5)	550 (440-660.50)	683 (456.95-881.50)	0.005
Complications					
Invasive mechanical ventilation, n (%)		1255 (68.4)	1150 (68.8)	105 (65.0)	0.211
	Days under mechanical ventilation ^a	12 (6-20.25)	12 (6-21)	10.50 (5-20)	0.213
	ICU length of stay (days) ^a among patients under mechanical ventilation	15 (8-25)	15 (8-25)	13 (6-25.50)	0.258
	Hospital length of stay (days) ^a among patients under mechanical ventilation	21 (12-35)	22 (13-36)	21 (11-34.50)	0.301
	Mortality among patients under mechanical ventilation, n (%)	357 (29.9)	321 (29.4)	36 (34.6)	0.269
MODS, n (%)		1249 (59.2)	1130 (58.7)	119 (64.3)	0.137
Vasopressors, n (%)		1069 (50.7)	956 (49.7)	113 (61.1)	0.003
Prone positioning, n (%)		374 (17.7)	346 (18.0)	28 (15.1)	0.331
Corticosteroids, n (%)		759 (41.7)	684 (41.6)	75 (42.1)	0.892
Acute Kidney Injury, n (%)		440 (23.7)	381 (22.8)	59 (32.4)	0.004
Renal Replacement Therapy, n (%)		208 (10.8)	187 (10.8)	21 (11.5)	0.773
	Intermittent Hemodialysis, n (%)	88 (4.6)	75 (4.3)	13 (7.1)	0.087

	Continuous Renal Replacement Therapy, n (%)	186 (9.7)	165 (9.5)	21 (11.5)	0.393
	Hospital-acquired pneumonia, n (%)	116 (5.5)	106 (5.5)	10 (5.4)	0.957
Outcome					
	ICU length of stay (days) ^a	8 (4-18)	8 (4-18)	7 (3.5-17)	0.164
	Hospital length of stay (days) ^a	15 (9-28)	15 (9-27.5)	14 (8-26)	0.155
	Overall mortality, no. (%)	388 (19.6)	351 (19.5)	37 (21.0)	0.627

Ilustración 3: Comparación de las curvas ROC para la predicción de la coinfección bacteriana entre la PCR (proteína C reactiva), procalcitonina y leucocitos.



Área bajo la curva

Variables resultado de contraste	Área	Error tip. ^a	Sig. asintótica ^b	Intervalo de confianza asintótico al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
PCR	,634	,029	,000	,578	,691
PCT	,799	,022	,000	,756	,842
Leucos	,557	,034	,060	,490	,624

La variable (o variables) de resultado de contraste: PCR, PCT, Leucos tiene al menos un empate entre el grupo de estado real positivo y el grupo de estado real negativo. Los estadísticos pueden estar sesgados.

a. Bajo el supuesto no paramétrico

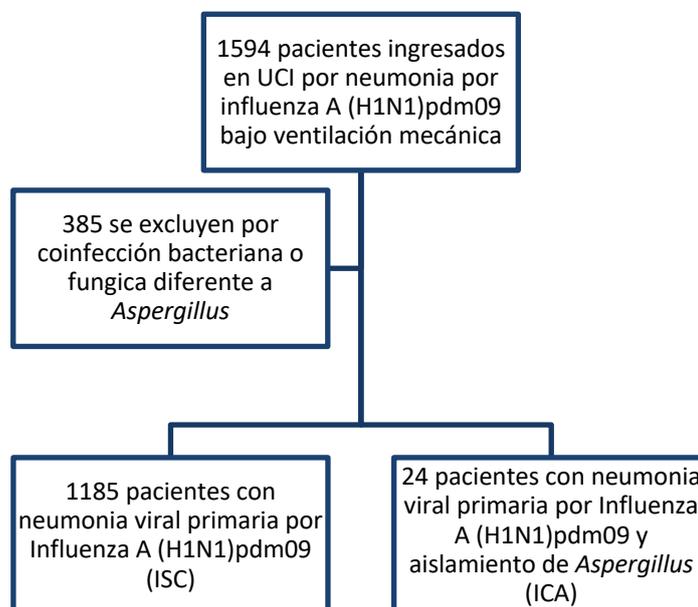
b. Hipótesis nula: área verdadera = 0,5

5.3 Significancia clínica en el aislamiento de *Aspergillus spp.* en el paciente crítico con Influenza A (H1N1)pdm09.

De los 1594 pacientes que requirieron ventilación mecánica invasiva e ingreso en UCI por neumonía confirmada por influenza A (H1N1), 385 fueron excluidos debido a otra coinfección diferente del aislamiento de *Aspergillus spp.* En total, 1185 pacientes con neumonía por Influenza A(H1N1)pdm09 sin coinfección (ISC) se compararon con 24 pacientes con neumonía por Influenza A (H1N1)pdm09 y aislamiento de *Aspergillus* (ICA) en muestras respiratorias (

Ilustración 4).

Ilustración 4: Diagrama de distribución de los casos de neumonía por Influenza A(H1N1)pdm09 ingresados en UCI en función del aislamiento de *Aspergillus* en vías respiratorias



Los pacientes con ICA fueron mayores (64 [54-71] vs 49 [38-60], $P < 0.001$), presentaron una mayor proporción de EPOC (39.1% vs 17.8%, $P = 0.024$), insuficiencia renal crónica (21.7% vs 7.1%, $P = < 0.023$) e inmunodeficiencia (34.8% vs 10.8%, $P = 0.002$). Los pacientes con ICA desarrollaron una mayor proporción de disfunción renal aguda (47.6% vs 28.0%, $P = 0.048$) y fueron tratados con mayor frecuencia con corticosteroides (71.4% vs 47.1%, $P = < 0.044$). La mortalidad global fue mucho mayor en los pacientes con ICA (65,2% frente a 29,6%, $P < 0,001$) (Tabla 1). En el análisis multivariado, el aislamiento de *Aspergillus* spp. en pacientes críticos ventilados con neumonía viral primaria por Influenza H1N1 fue un factor de riesgo independiente de mortalidad OR: 2.106 (IC95%: 0.014-0.398; $p=0.035$), además de corticosteroides OR: 2.768 (IC 95%: 0.022-0.131; $p=0.006$), Insuficiencia renal aguda OR:7.647 (IC95%: 0.187-0.316; $p=0.001$), Inmunodeficiencia

OR: 5.979 (IC95%: 0.176-0.348; p=0.001) y APACHE II ingreso en UCI OR: 5.538 (IC95%: 0.007-0.014; p=0.001) (Tabla 3).

Tabla 3: Comparison of demographic and clinical characteristics among patients with Influenza A (H1N1)pdm09 pneumonia admitted to ICU under invasive mechanical ventilation with or without *Aspergillus* isolation in respiratory samples.

Variables	Overall (n=1209)	Only Influenza A(H1N1) (n=1185)	Coinfection <i>Aspergillus</i> (n=24)	P
Demographics				
Age, years, mean (SD)	50 (38-60)	49 (38-60)	64 (54-71)	<0.001
Male sex, n (%)	672 (57,6)	654 (57,1)	18 (85,7)	0.008
Severity of illness				
APACHE II score at ICU admission ^a	16 (12-21)	16 (11-21)	19 (16-23)	0.044
SOFA score at ICU admission ^a	5 (4-9)	7 (4-9)	6 (5-8.75)	0.915
Comorbidities, n (%)				
Asthma, n (%)	96 (8,3)	93 (8,2)	3 (15,0)	0.226 ^b
COPD, n (%)	219 (18,3)	210 (17,8)	9 (39,1)	0.024 ^b
Heart failure, n (%)	104 (9,0)	103 (9,0)	1 (5,0)	1 ^b
Chronic renal disease, n (%)	89 (7,4)	84 (7,1)	5 (21,7)	0.023 ^b
Hematologic malignancy, n (%)	82 (7,1)	78 (6,8)	4 (20,0)	0.047 ^b
Pregnancy, n (%)	59 (5,1)	59 (5,2)	0	0.619 ^b
Obesity, n (%)	452 (39,0)	445 (39,0)	7 (35,0)	0.714
Obesity BMI>40, n (%)	192 (16,6)	191 (16,8)	1 (5,0)	0.228 ^b
Obesity BMI>30, n (%)	260 (22,5)	254 (22,3)	6 (30,0)	0.420 ^b
Diabetes mellitus, n (%)	163 (14,1)	162 (14,2)	1 (5,0)	0.341 ^b
HIV infection, n (%)	25 (2,2)	23 (2,0)	2 (10,0)	0.067 ^b
Neuromuscular disease, n (%)	31 (2,7)	31 (2,7)	0	1 ^b
Autoimmune disorders, n (%)	41 (3,5)	40 (3,5)	1 (5,0)	0.516 ^b
Immunodeficiency	135 (11,3)	127 (10,8)	8 (34,8)	0.002 ^b
Clinical characteristics				
Days from symptoms onset to hospital admission ^a	4 (2-6)	4 (2-6)	4 (3-7)	0.399
Days from hospital admission to diagnosis ^a	2 (1-5)	2 (1-5)	5(2- 6)	0.010
Days from hospitalization to ICU admission ^a	1 (1-2)	1 (1-2)	2(1-6)	0.007
Vaccinated, n(%)	46 (4,0)	46 (4,1)	0	1 ^b

Antibiotic treatment first day in ICU, n (%)	1169 (100)	1148 (100)	21 (100)	1
Pulmonary infiltrates, n (%)	2 (2-3)	3 (2-4)	3 (2-4)	0.603
Laboratory values^a				
LDH	986 (510-1787)	661 (430-1068)	456 (335-1243)	0.111
TGO	55 (36-130)	57 (38-114)	65 (33-87)	0.947
TGP	49 (26-102)	44 (25-84)	36 (30-45)	0.805
CPK	137 (93-551)	217 (98-585)	145 (68-1020)	0.471
Leucocytes	8400 (4700-15650)	7100 (4200-11400)	5550 (2500-14800)	0.637
Platelets	152000 (113500-208000)	156000 (119000-217000)	209000 (49000-300000)	0.723
Creatinine	0.9 (0,75-1,40)	0,90 (0,70-1,39)	1,02 (0,75-2,47)	0.222
Urea	34 (22-59)	38,00 (25,00-60,00)	50,00 (34,00-170,00)	0.004
Procalcitonin	0.50 (0,25-1,48)	0,62 (0,24-2,16)	2,00 (0,80-4,74)	0.065
PCR	21.8 (13.55-87.80)	26,00 (14,00-89,00)	35,00 (16,30-235,00)	0.386
Fibrinogen	531 (451-629)	536 (427-645)	647 (424-770)	0.492
Complications				
Days of invasive mechanical ventilation ^a	12 (6-20)	12 (6-20)	14.5 (8-20)	0.621
Non-invasive mechanical ventilation, n (%)	394 (33,8)	385 (33,7)	9 (42,9)	0.377
MODS, n (%)	960 (82,9)	942 (82,8)	18 (90,0)	0.395
Vasopressors, n (%)	844 (72,9)	827 (72,7)	17 (85,0)	0.219
Prone positioning, n (%)	338 (29,2)	330 (29,0)	8 (40,0)	0.283
Corticosteroids, n (%)	486 (47,6)	471 (47,1)	15 (71,4)	0.044
Acute Kidney Injury, n (%)	298 (28,4)	288 (28,0)	10 (47,6)	0.048
Renal Replacement Therapy, n (%)	171 (16,3)	167 (16,2)	4 (22,2)	0.516 ^b
Intermittent Hemodialysis, n (%)	64 (6,1)	61 (5,9)	3 (16,7)	0.091 ^b
Continuous Renal Replacement Therapy, n (%)	153 (14,5)	149 (14,4)	4 (22,2)	0.317 ^b
Hospital-acquired pneumonia, n (%)	107 (9,2)	102 (9,0)	5 (25,0)	0.031
Outcome				
ICU length of stay (days) ^a	15 (8-25)	15 (8-25)	17 (10-22)	0.775
Days to death				
Hospital length of stay (days) ^a	21.5 (13-35)	21 (13-35)	22 (17-30)	0.851
Overall mortality, no. (%)	347 (30,3)	332 (29,6)	15 (65,2)	<0.001

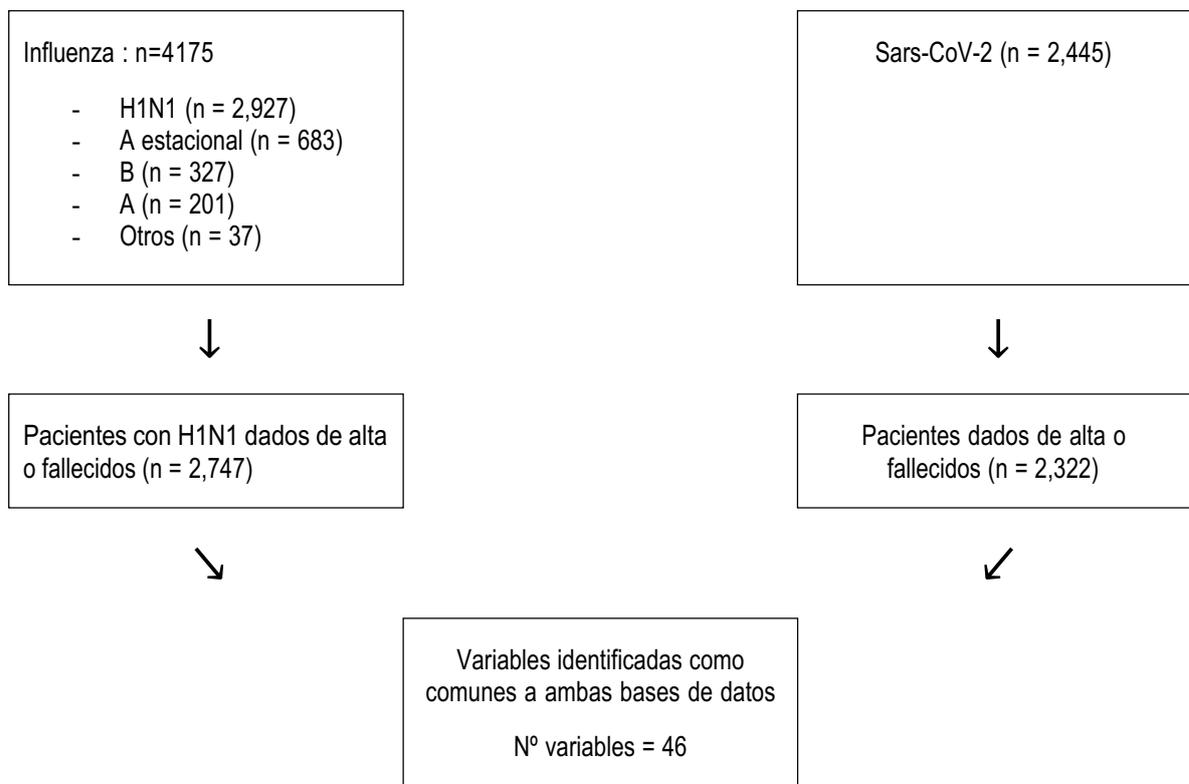
Tabla 4: Multivariate logistic regression analysis for risk factors for death among critically ill ventilated patients with influenza A(H1N1) pneumonia.

Muerte	OR	95% CI	p
Corticosteroids	2.768	0.022-0.131	0.006
Acute Kidney Injury	7.647	0.187-0.316	0.000
Immunodeficiency	5.979	0.176-0.348	0.000
APACHE II score at ICU admission	5.538	0.007-0.014	0.000
<i>Aspergillus</i> isolation	2.106	0.014-0.398	0.035

5.4 Diferencias de mortalidad entre la infección por Influenza A H1N1pdm09 y SARS-CoV-2 en el paciente crítico.

Del registro los 4175 pacientes con Influenza grave ingresados en UCI, 2927 fueron Influenza A (H1N1)pdm09 habiéndose excluidos del análisis 683 pacientes con Influenza A estacional, 327 Influenza B y 201 Influenza no tipificada. De los 2927 pacientes con Influenza A(H1N1)pdm09 se han excluidos aquellos sin infiltrados radiológicos y aquellos sin outcome registrado. Finalmente 2747 pacientes con Influenza A(H1N1)pdm09 se compararon con 2322 pacientes con neumonía por SARS-CoV-2 (Ilustración 5).

Ilustración 5: Diagrama de distribución de los casos de neumonía por Influenza A(H1N1)pdm09 y SARS-CoV-2 para su análisis de mortalidad



Los pacientes con Influenza A(H1N1)pdm09 respecto a SARS-CoV-2 fueron significativamente más jóvenes ($51,7 \pm 15,5$ vs $62,5 \pm 11,6$, $P = 0,001$) pero presentaban una mayor comorbilidad : EPOC ($20,4\%$ vs $7,2\%$, $P < 0,001$), insuficiencia cardíaca ($10,9\%$ vs $3,0\%$, $P < 0,001$), insuficiencia renal crónica ($27,8\%$ vs $4,2\%$, $P < 0,001$). Los pacientes con SARS-CoV-2 a pesar de presentar una menor puntuación en los scores de gravedad (APACHE-II $15,1 \pm 6,7$ vs $16,0 \pm 7,8$ $p < 0,001$; SOFA $5 (3;7)$ vs $5 (3;8)$ $p < 0,001$) requirieron una mayor proporción de VMI 74% vs $59,2\%$ $p < 0,001$ y mayor requerimiento de decúbito prono $59,8\%$ vs $24,5\%$ $p < 0,001$. Los valores de PCT fueron mayor entre los pacientes Influenza A(H1N1)pdm09 respecto a SARS-CoV-2 [$0,62 (0,20;2,94)$ vs $0,24 (0,11;0,60)$ $p < 0,001$], sin embargo la prescripción de antibioticoterapia frente a bacterias fue elevada en

ambos grupos e incluso mayor para los pacientes SARS-CoV-2 [90,8% vs 84,6%, $p < 0,001$]. Los días de estancia en UCI y hospitalaria fue significativamente mayor entre los pacientes SARS-CoV-2 vs Influenza A (H1N1)pdm09 [15 (8;27) vs 9 (4;19), $p < 0,001$] y [26 (16;42) vs 17 (10;29), $p < 0,001$] respectivamente. La mortalidad cruda fue mayor en los pacientes SARS-CoV-2 frente a la observada en los pacientes Influenza A(H1N1)pdm09 [34,5% vs 22,0%, $p < 0,001$](Tabla 5). Tras el ajuste de la edad y la comorbilidad asociada mediante el *propensity score*, los pacientes SARS-CoV-2 tenían una mayor mortalidad [29,6% vs 23,6%, $p < 0,001$], es decir, los paciente Influenza A(H1N1)pdm09 tienen una OR 1,381 (1,16:1,644) superior de sobrevivir frente a SARS-CoV-2 (Tabla 9).

Tabla 5: Characteristics of patients according study cohort mortality H1N1 vs SARS-CoV_2

	Overall * N = 5,069	H1N1 N = 2,747	Sars-CoV-2 N = 2,322	P-value
Age (years)	56.6 ± 14.9	51.7 ± 15.5	62.5 ± 11.6	< .001
Sex male	3257 (64.3)	1622 (59.0)	1635 (70.5)	< 0.001
Apache-II	15.6 ± 7.3	16.0 ± 7.8	15.1 ± 6.7	< .001
Sofa	5 (3 ; 8)	5 (3 ; 8)	5 (3 ; 7)	0.003
Days in hospital prior to ICU admission	1 (1 ; 3)	1 (1 ; 2)	2 (0 ; 4)	0.001
ICU days	12 (5 ; 23)	9 (4 ; 19)	15 (8 ; 27)	< 0.001
Hospital days	21 (12 ; 35)	17 (10 ; 29)	26 (16 ; 42)	< 0.001
Death †	1404 (27.7)	604 (22.0)	800 (34.5)	< 0.001
Obesity	1673 (33.0)	912 (33.2)	761 (32.8)	0.748
Pregnant	235 (4.6)	232 (8.4)	3 (0.1)	< 0.001
Flu vaccine	567 (11.3)	170 (6.3)	397 (17.1)	< 0.001
Sanitary worker	118 (2.3)	38 (1.4)	80 (3.5)	< 0.001
Comorbidities				
Asthma	402 (7.9)	261 (9.5)	141 (6.1)	< 0.001
COPD	726 (14.3)	560 (20.4)	166 (7.2)	< 0.001
Heart failure	369 (7.3)	299 (10.9)	70 (3.0)	< 0.001
Renal failure	783 (16.4)	685 (27.8)	98 (4.2)	< 0.001
Hematologic disease	296 (5.8)	208 (7.6)	88 (3.8)	< 0.001
Neuromuscular disease	99 (1.9)	77 (2.8)	22 (0.9)	< 0.001
Autoimmune disease	188 (3.7)	100 (3.6)	88 (3.8)	0.779
Immunosuppression	391 (7.7)	307 (11.2)	84 (3.6)	< 0.001
HIV	67 (1.3)	62 (2.3)	5 (0.2)	< 0.001
Mechanical ventilation				
Non invasive	1191 (23.5)	974 (35.5)	217 (9.3)	< 0.001
Invasive	3356 (66.2)	1625 (59.2)	1731 (74.5)	< 0.001
ECMO	76 (1.5)	37 (1.4)	39 (1.7)	0.329
Prono	2057 (40.6)	672 (24.5)	1385 (59.8)	< 0.001
nav	563 (11.1)	192 (7.0)	371 (16.0)	< 0.001
LDH	544 (383 ; 839)	602 (376 ; 969)	513 (386 ; 732)	< 0.001
CPK	142 (68 ; 357)	190 (80 ; 503)	113 (58 ; 230)	< 0.001
Leucocytes (×10 ³)	7.9 (5.1 ; 11.6)	7.5 (4.45 ; 11.8)	8.2 (5.78 ; 11.6)	< 0.001
Creatinine (mg/dL)	0.90 (0.70 ; 1.24)	0.90 (0.70 ; 1.40)	0.86 (0.70 ; 1.12)	< 0.001
Urea (mg/dL)	42 (29 ; 63)	41 (27 ; 66)	42 (31 ; 62)	0.005
PCT	0.34 (0.14 ; 1.12)	0.62 (0.20 ; 2.94)	0.24 (0.11 ; 0.60)	< 0.001
PCR	19.5 (10 ; 33)	27 (13.6 ; 90)	15.6 (8.5 ; 24.5)	< 0.001

Data are means ± SD, medians (IQR) and frequencies (%)

(†) The observed mortality rate was higher in group Sars-CoV-2 in relation to H1N1: relative risk = 1.57; 95% CI = 1.43 ; 1.71

Tabla 6: (continuation) Characteristics of patients according study cohort mortality H1N1 vs SARS-CoV_2

	Overall N = 5,069	H1N1 N = 2,747	Sars-CoV-2 N = 2,322	P-value
Antibiotics at admission	4433 (87.5)	2325 (84.6)	2108 (90.8)	< 0.001
Zanamivir	35 (0.7)	35 (1.3)	0	< 0.001
Corticoids	2405 (47.5)	1017 (37.0)	1388 (59.8)	< 0.001
diasVM	11 (5 ; 22)	9 (3 ; 18)	15 (8 ; 25)	< 0.001
ATB1				< .001
no	289 (6.2)	74 (3.1)	215 (9.5)	
cro	2387 (51.3)	967 (40.3)	1420 (62.9)	
claritro	30 (0.6)	24 (1.0)	6 (0.3)	
azitro	332 (7.1)	53 (2.2)	279 (12.4)	
imi	52 (1.1)	49 (2.0)	3 (0.1)	
levo	393 (8.4)	334 (13.9)	59 (2.6)	
cefotax	347 (7.5)	280 (11.7)	67 (3.0)	
vanco	10 (0.2)	9 (0.4)	1 (0.0)	
ptz	254 (5.5)	174 (7.2)	80 (3.5)	
mero	278 (6.0)	223 (9.3)	55 (2.4)	
lnz	42 (0.9)	33 (1.4)	9 (0.4)	
cefepime	41 (0.9)	40 (1.7)	1 (0.0)	
amc	101 (2.2)	81 (3.4)	20 (0.9)	
caz	15 (0.3)	14 (0.6)	1 (0.0)	
Otros	85 (1.8)	45 (1.9)	40 (1.8)	

Data are frequencies (%)

Tabla 7: Additive logistic regression for Sars-Cov-2

	Coefficient (SE)	P-value	Odd-Ratio (95% CI)
Age	Non-linear effect (see figure 1)	< .001	-
Sex male	0.586 (0.073)	< .001	1.796 (1.556 ; 2.073)
Sanitary worker	1.171 (0.230)	< .001	3.226 (2.054 ; 5.069)
Asthma	-0.326 (0.131)	0.013	0.722 (0.558 ; 0.934)
COPD	-1.914 (0.108)	< .001	0.147 (0.119 ; 0.182)
Heart failure	-1.886 (0.152)	< .001	0.152 (0.113 ; 0.204)
Obesity	0.293 (0.073)	< .001	1.341 (1.162 ; 1.548)
HIV	-1.557 (0.500)	0.002	0.211 (0.079 ; 0.562)
Neuromuscular disease	-1.043 (0.292)	< .001	0.352 (0.199 ; 0.625)

Autoimmune disease	0.354 (0.185)	0.055	1.425 (0.992 ; 2.047)
Immunosuppression	-1.738 (0.143)	< .001	0.176 (0.133 ; 0.233)

BIC = 5397.649

Ilustración 6: Effect of age on the probability that the patient belongs to the Sars-CoV-2 cohort (95%CI)

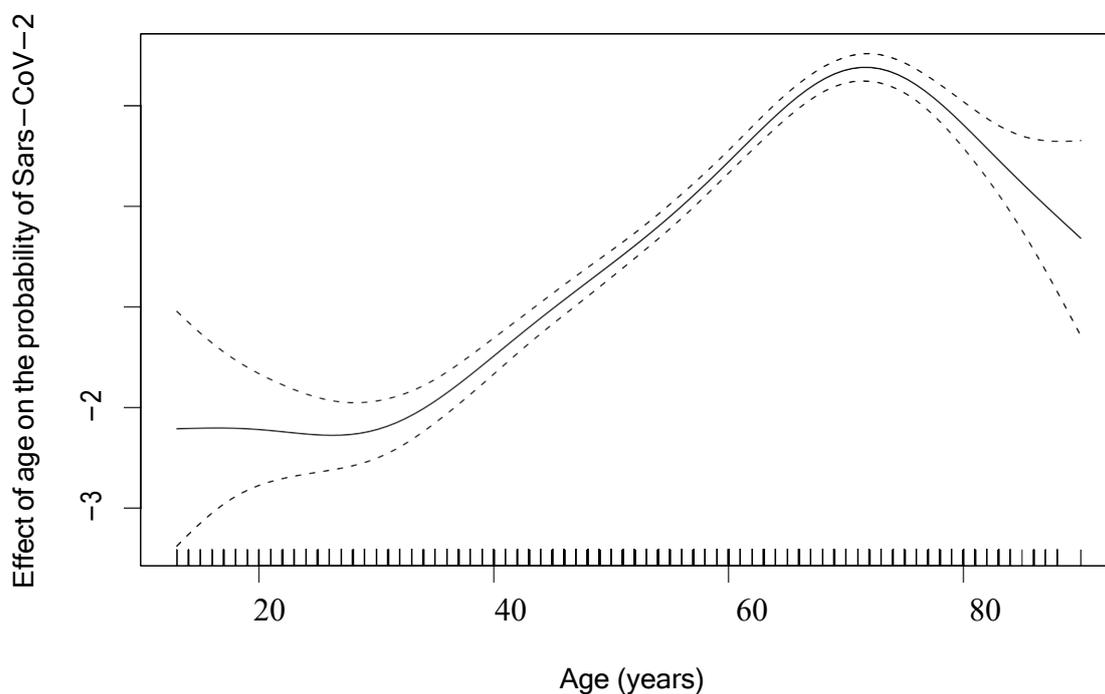


Tabla 8: Characteristics of patients after Propensity Score Matching

.	H1N1 n = 1,381	Sars-CoV-2 n = 1,381	P-value*	Standardized mean difference (%) **
Age (years)	58.0 ± 13.1	58.7 ± 12.8	0.076	5.014
Sex male	924 (66.9)	911 (66.0)	0.558	-1.986
Sanitary worker	30 (2.2)	36 (2.6)	0.519	2.726
Asthma	90 (6.5)	106 (7.7)	0.236	4.351
COPD	192 (13.9)	165 (11.9)	0.093	-6.026
Heart failure	86 (6.2)	70 (5.1)	0.141	-5.280
Obesity	484 (35.0)	465 (33.7)	0.384	-2.910

HIV	5 (0.4)	5 (0.4)	1	0.004
Neuromuscular disease	21 (1.5)	21 (1.5)	1	0.015
Autoimmune disease	51 (3.7)	60 (4.3)	0.435	3.196
Immunosuppression	96 (7.0)	83 (6.0)	0.319	-3.959

(*) Test for paired data

(**) Standardized differences of less than 10% support the assumption of balance between the 2 groups. (Sekhon, 2011).

Tabla 9: Association cohort

		<i>H1N1</i>	<i>Sars-CoV-2</i>	P-value*	Odd-Ratio (95% CI)*
Outcome	Alive	1,055 (76.4)	972 (70.4)	0.0003	1.381 (1.16 ; 1.644)
	Death	326 (23.6)	409(29.6)		

Data are frequencies (%)

(*) Conditional logistic regression

6. Discusión

6.1 Diferencias clínicas entre la infección por Influenza A (H1N1)pdm09 e Influenza A(H3N2) en el paciente crítico.

Cada invierno los virus de la gripe infectan del 5 al 15% de la población mundial. De 3 a 5 millones de personas sufren la enfermedad de forma grave y de 0,25 a 0,5 millones de personas mueren anualmente de gripe en todo el mundo. La mortalidad asociada a la influenza puede variar significativamente de una estación a otra dependiendo de la cepa del virus circulante. En 1918, la cepa pandémica H1N1 mató a más de 40 millones de personas en todo el mundo, y más del 95% de los casos fatales se complicaron con neumonía bacteriana tal como mostraron las autopsias realizadas. Por otra parte, la pandemia de H3N2 mató solo a cerca de 1 millón de personas en todo el mundo, siendo su mortalidad menor a muchas epidemias estacionales posteriores (46). Estas diferencias en la mortalidad encontradas en pandemias previas probablemente puedan ser explicadas por las diferencias en la virulencia entre las cepas. Existen algunos estudios epidemiológicos realizados en pacientes ambulatorios donde no se observaron diferencias significativas en la presentación clínica de los pacientes según el serotipo de influenza (77–79), en contraposición con estudios en modelos animales que observan una mayor patogenicidad de la influenza A(H1N1)pdm09 (80–82). Hasta la fecha, no se ha publicado ningún estudio que tuviera como objetivo explícito comparar la presentación clínica de los casos de influenza por subtipo de virus A en pacientes graves ingresados en UCI.

El objetivo de nuestro estudio ha sido analizar las diferencias entre los pacientes infectados por el serotipo de Influenza A(H1N1)pdm09 versus Influenza A(H3N2) que corroboren la

hipótesis de una mayor virulencia del serotipo de Influenza A(H1N1)pdm09. Con 2898 pacientes reclutados en 148 centros durante 7 años ininterrumpidos (2009-2015), este estudio observacional es posiblemente uno de los más grandes publicados hasta la fecha y el único específico en el paciente grave. Todos los pacientes incluidos en nuestro estudio presentaron un diagnóstico de Influenza mediante *real time polymerase chain reaction* (rt-PCR), se descartaron todos aquellos pacientes con Influenza B y en aquellos en que no se realizó subtipaje de Influenza A. Se registraron todas las comorbilidades presentes en los pacientes, las variables fisiológicas durante el ingreso, scores de gravedad, disfunción multiorgánica y en especial la presencia de co-infección bacteriana. Todos los pacientes reclutados requirieron ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos y fueron estrictamente monitorizados. La mayor parte requirieron ventilación mecánica invasiva, lo que permitió la obtención de muestras microbiológicas de vías respiratorias bajas. Todo ello confiere a nuestro estudio una mayor homogeneidad y fiabilidad para la interpretación de los resultados, comparativamente a estudios poblacionales previos similares.

La pandemia A (H1N1) pdm09 brindó una oportunidad excepcional para comparar la epidemiología entre los virus de la influenza emergente y endémica e investigar posibles interacciones. Los virus pandémicos de la influenza de 1957 y 1968 reemplazaron a sus contrapartes de la influenza A estacional; la circulación de A (H1N1) fue desplazada por la aparición de A / Singapur / 1/57 (H2N2), que a su vez fue desplazada por A / HongKong / 1/68 (H3N2) (83). Después de 2009, el virus pandémico A (H1N1) pdm09 desplazó la cepa A (H1N1) estacional en circulación, pero no el subtipo A (H3N2). Lo mismo ocurrió en España desde el 2009, año de inicio de la recogida de datos del presente estudio, donde el serotipo A(H1N1)pdm09 desplaza casi por completo al resto de serotipos estacionales. De los 2898 pacientes reclutados desde el año 2009 al 2015, un total 2421 presentaban infección por A(H1N1)pdm09, es decir el 83,54% de todos los ingresados en UCI con infección gripal.

Otro dato relevante en nuestra investigación es la diferencia de edad, siendo significativamente menor entre los pacientes con A(H1N1)pdm09 respecto a A(H3N2) (50 años [38-61] vs 61 años [50-73], $P = 0.001$). Éste dato ya había sido observado previamente. Durante la pandemia de 2009 por Influenza A(H1N1)pdm09 hubo más hospitalizaciones entre los más jóvenes que para la influenza estacional y viceversa para los ancianos (84,85). Sin embargo, sigue existiendo controversia en cuanto a si estas observaciones reflejan diferencias en las tasas de incidencia específicas por edad o diferencias subyacentes en la gravedad relacionada con la edad. Una de las hipótesis sugiere que la infección previa por otros serotipos de Influenza A puede conferir una protección cruzada contra otros subtipos. Ello explicaría el porqué hemos observado en nuestro estudio una menor incidencia de A(H1N1)pdm09 entre los pacientes más añosos; mientras que entre los más jóvenes, la incidencia y virulencia de la Influenza A(H1N1)pdm09 fue mayor. Sabemos que solo los nacidos antes de 1957 han podido estar expuestos a la Influenza A (H1N1). De hecho, las pandemias de influenza pasadas se han asociado con un “age shift” (cambio de edad) en los patrones de mortalidad en relación con la influenza estacional (86,87). Los datos epidemiológicos de nuestro estudio apoyarían esta supuesta protección cruzada descrita en investigaciones experimentales, que la relacionan a mecanismos de protección inmunológica a través de linfocitos T citotóxicos reactivos cruzados (88), anticuerpos neutralizantes contra epítomos conservados de infecciones gripales previas (89) y vías inmunitarias innatas (90). De igual modo, los resultados de nuestro estudio corroborarían el concepto de “pecado original antigénico” o efecto Hoskins, según el cual la memoria inmunológica de la primera exposición a un virus de la gripe A en la infancia influye en la respuesta inmune a una infección posterior, proporcionando una mejor protección contra la infección por el mismo subtipo incluso en la ancianidad (91).

Es llamativo encontrar en nuestro estudio un mayor porcentaje de vacunación entre los pacientes afectados de A(H3N2) (23,5% vs 5,7%, $P < 0.001$), lo cual no impidió parecer una enfermedad grave. Esta observación podría inducir a pensar que la vacunación no fue suficientemente efectiva. La interpretación de este resultado debe ser analizado con prudencia. Como hemos descrito previamente, el grupo de pacientes con A(H3N2) eran más añosos y con más antecedentes de patología crónica previa, motivo el por cuál debían tener indicación de vacunación. Es posible que la vacunación les confiriese una cierta inmunidad para evitar una mayor patogenicidad del virus A(H3N2), pero no lo suficiente como para evitar descompensar su patología crónica previa, lo que motivó la gravedad del cuadro clínico y el requerimiento de ingreso en UCI. Así mismo, sabemos que estos pacientes más añosos y con mayor prevalencia de enfermedades crónicas se vacunan regularmente de la gripe. Esta vacunación anual repetida puede estar relacionado con la variabilidad en la efectividad de la vacuna contra la influenza, concepto conocido como “interacción antigénica negativa”(20).

Durante la infección por influenza, se pueden observar diferentes hallazgos hematológicos, especialmente la reducción en la serie blanca (92). En nuestro estudio hemos observado una diferencia estadísticamente significativa en el recuento leucocitario, siendo mayor para los pacientes con A(H3N2), lo que pudiera estar artefactado por una mayor proporción de coinfección bacteriana (Tabla 1). Explorando este dato, se analizó el porcentaje de pacientes que desarrollaron leucopenia durante la infección (definida como un recuento leucocitario < 4500 cél/mm³), siendo mayor entre los pacientes con Influenza A(H1N1)pdm09 (27.0% vs 21.7%, $p=0.004$). Estos resultados también son consistentes con la literatura previa. Se cree que estas alteraciones hematológicas se producen como resultado de la migración celular de la circulación a los tejidos, la muerte celular por necrosis o apoptosis y la supresión de la hematopoyesis en la médula ósea (93). Desafortunadamente, no podemos proporcionar datos

sobre el recuento específico linfocitario ya que esta variable no fue registrada en nuestra base de datos.

Otros hallazgos anormales de laboratorio más comúnmente observados en la gripe incluyen la elevación de las transaminasas y la LDH. En nuestro estudio, al comparar los subtipos de Influenza, éstas alteraciones analíticas también fueron significativamente más frecuentes en el subtipo A(H1N1)pdm09 (Tabla 1).

Nuestros resultados objetivan que la infección por A (H1N1)pdm09 se asoció con un mayor porcentaje de casos graves comparativamente a la infección por A (H3N2).

Si bien el subtipo de Influenza A(H1N1) se ha asociado generalmente con un pronóstico clínico más grave, la frecuencia de las complicaciones y las tasas de mortalidad varían según las publicaciones en diferentes grupos de pacientes durante las epidemias (94).

La caracterización de la respuesta inmune a la infección por el virus de la influenza puede contribuir a nuestra comprensión de la gravedad de la enfermedad y puede explicar la virulencia, la patogenicidad y el tropismo de determinadas cepas de virus. Las células epiteliales respiratorias y las células del sistema inmune producen diferentes citoquinas tras la exposición al virus de la influenza (95,96). Los altos niveles de citoquinas proinflamatorias se han asociado con la enfermedad grave, el Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo (SDRA) y la disfunción multiorgánica (97,98). En algunos estudios, la infección con el virus A (H1N1) pdm09, en comparación con las infecciones por virus de influenza B y otros subtipos de virus de influenza A, se ha asociado con una enfermedad más grave (99). Mientras que en otros, la enfermedad es similar (100,101). Sin embargo, hasta la fecha no existen estudios en humanos específicos para comparar la respuesta inmunitaria inducida por el virus A (H1N1) pdm09 frente a otras cepas del virus de la influenza estacional. Sí que existen escasos estudios publicados en animales (80–82), donde los niveles de citoquinas inflamatorias, incluidas la

interleucina-6, el interferón alfa y el factor de necrosis tumoral alfa, fueron mayores en los pulmones de los animales infectados con la pandemia A(H1N1)pdm09 de 2009.

En nuestro estudio la valoración del score de gravedad (APACHE II) al ingreso fue mayor para la Influenza A (H3N2) (18 (13-25) vs 15 (10-20); $p < 0.001$), éste dato lo consideramos como un valor confundidor, ya que en esta escala de gravedad puntúa de forma excesiva la edad y la presencia de patología crónica previa. Cuando se evaluó el SOFA score, también registrado al ingreso en UCI, no hubo diferencias entre los grupos A(H3N2) frente A(H1N1)pdm09 (6 (3-9) vs 5 (3-8); $p = 0.735$). Sin embargo, nuestros resultados objetivan que la infección por A (H1N1)pdm09 se asoció con una evolución en UCI significativamente más grave que para la Influenza A(H3N2). Ésta mayor gravedad del A(H1N1)pdm09 viene reflejada por una mayor proporción de disfunción multiorgánica (61,2% vs 55,4%, $P < 0.038$). Así mismo presentaron una insuficiencia respiratoria más grave que precisó una mayor proporción de asistencia ventilatoria invasiva (70,6% vs 65,1%, $P < 0.046$) y mayor requerimiento de ventilación en decúbito prono (18,9% vs 13,0%, $P < 0.007$) por desarrollo de SDRA grave.

Estos resultados aparentemente difieren de algunos estudios. El motivo de esta diferencia puede deberse principalmente a los sujetos incluidos en los estudios. En algunos se comparaba la infección por A (H1N1)pdm09 frente a Influenza A estacional (H1N1), otros incluían las diferentes cepas de Influenza A, incluyendo a A(H1N1) estacional, A (H1N1) pdm09 y A(H3N2), en otros estudios también se comparaban con Influenza B. Así mismo algunos estudios fueron retrospectivos comparando los diferentes subtipos obtenidos de años diferentes o los estudios estaban circunscritos a edades pediátricas.

Como ya hemos comentado y según nuestras observaciones, se podría afirmar que el cuadro clínico de la infección por Influenza A(H1N1)pdm09 es más grave. Ello también se correlaciona con una mayor estancia en UCI (11 días (5-21) vs 8 días (4-19); $p < 0.001$).

Finalmente, y a pesar de la mayor gravedad de los pacientes con A(H1N1)pdm09, ambos grupos presentaron una mortalidad similar (21.9% vs 24.2%; $p = 0.337$). Esto es así debido a que la mortalidad de la Influenza A(H3N2) puede haberse visto incrementada por la mayor edad y comorbilidad entre los pacientes infectados por éste serotipo y no por la mayor patogenicidad del A(H3N2) frente al A(H1N1)pdm09. Por otra parte, los pacientes con A(H3N2) presentaba una mayor complicación en forma de neumonía bacteriana (26.5% vs 17,4%; $p < 0.001$), sobre una mayor proporción de EPOC (11.4% vs 6.0%; $p < 0.001$), lo que sin duda contribuyó a aumentar la mortalidad de este grupo.

El presente estudio presenta varias limitaciones. La principal es la de no haber podido realizar determinaciones orientadas a demostrar la mayor capacidad de lesión o patogenicidad de la Influenza A(H1N1)pdm9 en el alveolo pulmonar, tales como niveles de mediadores inflamatorios en lavado alveolar o alteración de la respuesta inmune tanto local como sistémica. Así mismo, el estudio está realizado en el paciente ingresado en UCI; esto le confiere una mayor homogeneidad, pero no puede ser desvinculado de la penetración de la infección en la población general ni del grado de hospitalización que generó cada serotipo en la planta de hospitalización convencional.

6.2 Co-infección neumocócica en pacientes críticos con neumonía viral primaria por Influenza A(H1N1)pdm09.

En nuestro estudio de los 2343 pacientes ingresados por Influenza A(H1N1)pdm09 se constató coinfección bacteriana en 394 pacientes (16,81%), siendo por *S. pneumoniae* un total de 186 (7,94%). Estos resultados de incidencia son similares a otros estudios donde la coinfección bacteriana en el paciente adulto oscila entre 15-25% siendo el *S. pneumoniae* el microorganismo más frecuentemente relacionado(61,102). No hemos encontrado diferencias de edad entre ambos grupos siendo la media alrededor de los 50 años. Desconocemos si la vacunación frente al neumococo en personas >65 años puede haber influido en esta distribución tal como describe Madhi et al.(103). Estos autores encuentran una reducción de la neumonía por *S. pneumoniae* en las infecciones respiratorias por influenza A, virus respiratorio sincitial y virus parainfluenza.

No se han encontrado diferencias significativas en la comorbilidad asociada en ambos grupos. Sin embargo, los pacientes con coinfección por *S. pneumoniae* presenta una mayor gravedad en base al APACHE II y SOFA scores obtenido a su ingreso en UCI. Esto, llamativamente, no se traduce en un aumento significativo de los días de ventilación mecánica, ni en prolongación de las estancias hospitalarias ni tampoco en un incremento de la mortalidad. Sigue siendo controvertido la asociación entre la coinfección bacteriana en la Influenza y la mortalidad. Está probado que existió un gran incremento de mortalidad en la Gripe Española(104) pero dicha asociación en la era post-antibiótica sigue generando incertidumbre. Es plausible pensar que el aumento de la gravedad de los pacientes con coinfección comporte una mayor mortalidad, tal como reportan algunos autores (105–107). Sin embargo, existe muchas diferencias entre estos estudios en relación a múltiples variables que pueden influir en la mortalidad, tal como: virus de Influenza epidémicos versus pandémicos, estudios en

edad pediátrica versus adultos u ancianos, pacientes en planta de hospitalización general versus UCI, uso de antibioticoterapia empírica, población en riesgo vacunada tanto para la Influenza como para el neumococo y por supuesto el germen causante de la coinfección.

El valor de la procalcitonina para la discriminación de la coinfección bacteria en pacientes con neumonía viral primaria por Influenza ya ha sido evaluado en estudios previos (35–37,108–110). El resultado de nuestra investigación es concordante con estos estudios y muestra la utilidad del valor predictivo negativo de la procalcitonina para descartar la coinfección bacteriana. Nuestro estudio se centra específicamente en pacientes ingresados en las UCI's por neumonía por Influenza A(H1N1)pdm09, por lo que el valor de este biomarcador es de extremada utilidad en pacientes en estado crítico. La gravedad que comporta el paciente crítico ha justificado el uso masivo de antibioticoterapia empírica al ingreso en UCI. En nuestro estudio, a la totalidad de los pacientes (100%) se les prescribió antibacterianos a su ingreso en UCI. Desconocemos si los investigadores de cada centro interrumpieron los antibióticos en base al VPN de la procalcitonina obtenida. Basada en la cinética de la procalcitonina parece razonable repetir la prueba pasadas 12-24 horas(111). Actualmente la procalcitonina está ampliamente accesible en la mayoría de los hospitales y en especial para los pacientes de UCI. Es probable que con la utilización del diagnóstico rápido mediante técnicas moleculares (paneles de PCR para neumonía), la procalcitonina sea un valor que contribuya a la retirada de antibióticos a los pacientes sin detección de PCR bacteriana y procalcitonina negativa.

En conclusión, la coinfección por *S. pneumoniae* en pacientes ingresados con Influenza A(H1N1)pdm09 es baja. A pesar de presentar una mayor gravedad a su ingreso en UCI, la coinfección por *S. pneumoniae* no se asocia a un incremento de la estancia hospitalaria ni a una mayor mortalidad. La procalcitonina presenta un elevado valor predictivo negativo y puede ser de utilidad para excluir la coinfección por *S. pneumoniae*.

6.3 Significancia clínica en el aislamiento de *Aspergillus* spp. en el paciente crítico con Influenza A (H1N1)pdm09.

La interpretación clínica del aislamiento de especies de *Aspergillus* en muestras respiratorias de pacientes críticos no inmunocomprometidos sigue siendo un desafío. Los criterios descritos por la European Organization for Research and Treatment of Cancer/ Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG)(112) no son apropiados para los pacientes críticos. En la última década, múltiples estudios han observado aislamiento de *Aspergillus* en las vías respiratorias de pacientes ingresados en UCI que no tenían ninguno de los factores de riesgo clásicos relacionados con el huésped identificados durante la conferencia de consenso EORTC / MSG. La interpretación y relevancia de este aislamiento en pacientes críticos no inmunocomprometidos es todavía más controvertida, siendo compleja la distinción entre colonización por *Aspergillus* o Aspergilosis Pulmonar Invasiva (IPA). Recientemente, se han desarrollado algoritmos clínicos aparentemente más apropiados para pacientes de UCI con el objetivo de discriminar mejor entre colonización e infección. La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)(113), la enfermedad hepática descompensada y el Síndrome de respuesta antiinflamatoria compensatoria (CARS) son factores predisponentes previamente bien conocidos para la adquisición de la API (114). Desde la irrupción de la pandemia por Influenza H1N1 del 2009, múltiples estudios también han relacionado la infección viral con la predisposición a la infección por *Aspergillus*. Nuestro estudio pretende aportar más conocimiento sobre esta posible relación. Con 1594 pacientes reclutados en 148 centros durante 7 años ininterrumpidos (2009-2015), este estudio observacional es posiblemente uno de los más grandes publicados hasta la fecha. Todos los pacientes incluidos en nuestro estudio estaban intubados por neumonía viral primaria grave

por Influenza A H1N1. Se excluyeron los pacientes no intubados por no disponer de al menos una muestra significativa de la vía respiratoria. Así mismo se excluyeron todos aquellos pacientes con aislamiento o sospecha de coinfección bacteriana. Finalmente se seleccionaron solo aquellos infectados por Influenza A H1N1 por considerarse un patógeno con capacidad de invasión parenquimatosa pulmonar y afectación de la inmunidad en mayor proporción y gravedad respecto a otros serotipos de Influenza como A H3N2 o B. Esto, lo diferencia claramente de otros estudios publicados donde la población es más mucho más heterogénea y donde la gravedad puede estar condicionada por otras coinfecciones.

En nuestro estudio destaca el uso de corticoides como factor de riesgo para el aislamiento de *Aspergillus* (71.4% vs 47.1%, $P = <0.044$). Los pacientes con infección gripal severa son tratados frecuentemente con corticosteroides sistémicos. El uso de la corticoterapia está en parte justificada por la hiperreactividad bronquial asociada a la infección que en algunos casos dificulta la ventilación mecánica por elevación de las presiones en vía aérea y desarrollo de auto-PEEP. Se estima que 18-69% de los pacientes con Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo (SDRA) son tratados con corticosteroides (115). Sin embargo, no hay evidencia de que los corticosteroides mejoren el resultado de estos pacientes y, por el contrario, está bien establecido que los corticosteroides sistémicos aumentan el riesgo tanto de IPA como de otras infecciones nosocomiales (116). Así mismo, un metaanálisis mostraba un incremento de la mortalidad en pacientes con influenza grave (OR 3.06, IC 95% 1.58-592) (117) por lo que en la actualidad tanto la CDC como la WHO no recomiendan su uso. Nuestro estudio también corrobora este último dato siendo los corticoides un factor de riesgo independiente de mortalidad con una OR: 2.768 (IC 95%: 0.022-0.131; $p=0.006$). Otros factores de riesgo detectados en nuestro estudio son la EPOC (39.1% vs 17.8%, $P = 0.024$), insuficiencia renal crónica (21.7% vs 7.1%, $P = <0.023$) e inmunodeficiencia (34.8% vs

10.8%, $P = 0.002$) y la disfunción renal aguda (47.6% vs 28.0%, $P = 0.048$), todos ellos ya descritos en la literatura médica.

De los 24 pacientes con ICA, solo dos (8,33%) fueron tratados con antifúngicos (ambos con voriconazol). Los dos pacientes eran EPOC y uno de ellos falleció por insuficiencia respiratoria grave. Este paciente fallecido presentaba además diabetes mellitus y un APACHE II superior al ingreso.

La mortalidad de los pacientes con ICA fue del 65,2% comparada con la mortalidad del 29,6% de los pacientes con Influenza A H1N1 sin co-infección, siendo un factor de riesgo independiente de mortalidad con una OR: 2.106 (IC95%: 0.014-0.398; $p=0.035$).

La mayor limitación de nuestro estudio es la imposibilidad de discriminar entre la colonización de *Aspergillus* y la API. Los datos presentados proceden del registro nacional español GETGAG (118) para determinar la epidemiología anual de los pacientes con Influenza grave ingresados en las UCI's de España. Este estudio no fue diseñado para evaluar la coinfección por *Aspergillus* por lo que no se dispone de los datos de determinación de galactomanano en sangre o lavado broncoalveolar (BAL), ni de la descripción detallada de la Tomografía Computerizada (CT) de tórax. Desde el año 2017 se incluye un subregistro en caso de aislamiento por *Aspergillus* por lo que en un futuro se podrá completar los datos aquí presentados, dicho estudio todavía está en curso, en parte enlentecido por la irrupción de la COVID-19. Dado la alta mortalidad descrita en nuestro estudio que asciende al 65,2%, sería adecuado reevaluar el diagnóstico y actitud terapéutica frente al aislamiento de *Aspergillus* en vía respiratoria de los pacientes críticos intubados por Influenza A H1N1. En este sentido una ausencia de tratamiento antifúngico o la demora en su inicio ensombrecería enormemente el pronóstico. Es posible, por tanto, que la alta mortalidad observada sea

secundaria a la falta de indicación de tratamiento antifúngico, sólo 2 de los 24 pacientes con aislamiento de *Aspergillus* al considerarse como colonizante.

Así mismo, tampoco disponemos del momento o tiempo transcurrido desde el ingreso en UCI y el aislamiento de *Aspergillus*. Pensamos que este dato es de especial relevancia y concretamente en los pacientes EPOC, algunos de los cuáles pueden estar previamente colonizados y desarrollar la API en el contexto de la infección vírica. Mientras que otros pacientes, incluso sin ningún factor de riesgo o comorbilidad conocida, podría adquirir la colonización y posteriormente evolucionar a API entendida como una infección de adquisición intrahospitalaria.

6.4 Diferencias de mortalidad entre la infección por Influenza A H1N1pdm09 y SARS-CoV-2 en el paciente crítico.

Tanto la Influenza A(H1N1)pdm09 como el SARS-CoV-2 presentan la capacidad de invadir el parénquima pulmonar desarrollando SDRA por neumonía viral primaria. En nuestro estudio observamos que las características clínicas y el pronóstico de estos dos agentes etiológicos difieren significativamente en el paciente con neumonía viral grave que ingresa en UCI.

Los pacientes con SARS-CoV-2 eran de mayor edad, con una media de hasta 10 años más, con respecto a la Influenza A(H1N1)pdm09. La comorbilidad asociada a la COVID-19 fue escasa comparada con los pacientes ingresados por Gripe A pandémico, en especial para la EPOC, insuficiencia cardíaca e insuficiencia renal crónica. La presencia de la comorbilidad entre los paciente COVID-19 difiere entre la población de estudio. Los estudios que incluyen pacientes de hospitalización general y aquellos procedentes de sociosanitarios no encuentran

diferencias en la comorbilidad entre COVID-19 e Influenza A (119,120), mientras que aquellos centrados en el paciente crítico muestran distribuciones de edad y comorbilidad similar a las nuestras (121,122). Es probable que frente a un paciente añoso y con alta comorbilidad fuese limitado para su ingreso en UCI durante la primera ola de la COVID-19. Ello explicaría la menor comorbilidad entre los críticos con COVID-19.

A destacar que, en nuestra investigación, la COVID-19 presentaba una menor puntuación en el SOFA score probablemente en relación a una menor afectación multisistémica pero con una mayor severidad respiratoria tal como se refleja en un aumento de los requerimientos de ventilación mecánica invasiva y de la necesidad de decúbito prono por insuficiencia respiratoria grave. Ésta diferencia clínica que refleja una mayor gravedad respiratoria en la neumonía por SARS-CoV-2 es identificada en números estudios (66,123–126).

Los días de estancia en UCI y hospitalaria fue significativamente mayor entre los pacientes SARS-CoV-2 vs Influenza A (H1N1)pdm09 similar a los observado en estudios similares(127). La mortalidad cruda fue mayor en los pacientes SARS-CoV-2 frente a la observada en los pacientes Influenza A(H1N1)pdm09 [34,5% vs 22,0%, $p < 0,001$]. Nuestro estudio incluye a los pacientes de la COVID-19 ingresados en UCI durante la primera y segunda ola. Para eliminar el posible sesgo de la limitación de acceso a la UCI y ventilación mecánica en pacientes añosos con gran comorbilidad se decidió realizar el análisis mediante el *propensity score* como método de ajuste para estas variables. Tras el ajuste de la edad y la comorbilidad asociada mediante el *propensity score*, los pacientes SARS-CoV-2 presentan una mayor mortalidad [29,6% vs 23,6%, $p < 0,001$], estimando el modelo obtenido que los pacientes Influenza A(H1N1)pdm09 tienen una OR 1,381 (1,16:1,644) superior de sobrevivir frente a SARS-CoV-2. La totalidad de los estudios que compara ambas mortalidades concluyen en similares resultados. Sin embargo, en estos estudios se incluyen Influenza estacional. Nuestro estudio compara específicamente pacientes con Influenza

A(H1N1)pdm09 habiéndose excluido del análisis a otros subgrupos de Influenza. Así mismo se excluyeron a todos los pacientes que no presentaban infiltrados pulmonares ya que probablemente fueron ingresados en UCI por otra enfermedad concomitante o descompensación de enfermedades previas. Hasta la fecha solo un artículo ha comparado la COVID-19 con la Influenza A pandémica, concretamente la del año 2017-2018, donde observan también una mayor mortalidad entre los enfermos COVID-19. Desde la disponibilidad de la vacuna para SARS-CoV-2 es seguro que observaremos un importante cambio epidemiológico y muy probablemente un descenso de la mortalidad asociada la COVID-19.

7. Conclusiones

De la presente Tesis se concluye:

- Nuestros datos sugieren que los subtipos de Influenza A tienen una presentación clínica diferente en pacientes críticamente enfermos. La Influenza A (H1N1)pdm09 afecta a pacientes más jóvenes, con menos comorbilidades y ocasiona una insuficiencia respiratoria aguda más grave. La influenza A (H3N2) se presenta con más frecuencia con coinfección bacteriana en ancianos con más enfermedades crónicas y especialmente EPOC.
- La coinfección por *S. pneumoniae* en pacientes ingresados con Influenza A(H1N1)pdm09 es baja. A pesar de presentar una mayor gravedad a su ingreso en UCI, la coinfección por *S. pneumoniae* no se asocia a un incremento de la estancia hospitalaria ni a una mayor mortalidad.
- Valores de procalcitonina inferiores a 0.20 ng/ml presentan un elevado Valor Predictivo Negativo (90,1%) y representa un biomarcador útil para descartar la coinfección bacteriana.
- La mortalidad fue significativamente mayor en pacientes con neumonía viral primaria por Influenza A(H1N1)pdm09 con aislamiento de *Aspergillus spp* en muestras respiratorias.
- Se deben realizar nuevos estudios para un mayor conocimiento de la relevancia clínica del aislamiento de *Aspergillus* en muestras respiratorias en pacientes intubados con neumonía primaria por influenza A (H1N1)pdm09.
- Los pacientes COVID-19 que requieren ingreso en UCI presentan una mortalidad significativamente mayor a los pacientes críticos con Influenza A(H1N1)pdm09.

8. Líneas de futuro

Identificar a la población de riesgo de desarrollar enfermedad grave por Influenza A continúa siendo de esencial importancia. Los estudios futuros se centran en disponer de un panel de biomarcadores que puedan predecir qué pacientes desarrollaran síntomas graves de forma que puedan acceder a un tratamiento más temprano y una vigilancia más estrecha. Otras líneas de investigación es determinar cómo la infección por Influenza A altera la colonización bacteriana y la respuesta inmunitaria en la vía respiratoria superior (nasal y orofaríngeo) y si ésta es diferente para cada subtipo de Influenza A (H1N1 y H3N2). Tal como se ha observado en la presente Tesis, la coinfección bacteriana más frecuente es debido al *S.pneumonie*, sin embargo se desconoce con exactitud los serotipos implicados, en especial en aquellos pacientes de riesgo con antecedente de vacunación al neumococo. Estudios epidemiológicos al respecto son fundamentales con el objetivo de seleccionar a los pacientes de riesgo, determinar si los serotipos implicados en la coinfección con Influenza son diferentes a aquellos sin infección viral y diseñar vacunas efectivas frente a los serotipos responsables. Tal como se observa en la presente Tesis, una de las complicaciones más graves asociada a la neumonía viral por Influenza A es la aspergilosis broncopulmonar invasiva. La interpretación del aislamiento del *Aspergillus* en el paciente no neutropénico con infección viral genera dudas sobre si es una colonización o una infección invasiva del hongo. Se han propuesto varios algoritmos en base a las características clínicas, radiológicas y la nueva incorporación de biomarcadores como el galactomanano y 1-3-b-glucano. Éstas últimas con desarrollo de nuevos kits comerciales que facilitan su disponibilidad, son más rápidos y presentan una mayor sensibilidad. Recientemente se ha introducido el diagnóstico molecular rápido

mediante la determinación de PCR de *Aspergillus* en la vía respiratoria, que incluso detecta algunos de los mecanismos de resistencia a los azoles. En un futuro, la validación de estos algoritmos puede llegar a identificar pacientes que se beneficien de un tratamiento profiláctico con antifúngicos ya sea sistémicos o nebulizados. Así mismo, en aquellos pacientes con sospecha de infección fúngica invasiva cabe establecer el tratamiento óptimo. Este tratamiento sigue siendo controvertido en aquellos pacientes graves con evolución tórpida especialmente desde el incremento de las resistencias adquiridas del *Aspergillus* a los azoles y a la emergencia de especies crípticas. Otro aspecto pendiente de establecer y que requiere nuevas líneas de investigación es determinar si la aspergilosis pulmonar en los pacientes con Influenza A es adquirida en el hospital o comunitaria. Recientemente se hipotetiza que el paciente está previamente colonizado y que en el contexto de una infección viral grave permite a la conidia su desarrollo e invadir la vía respiratoria. Los datos obtenidos serán esenciales para una mayor comprensión de la historia natural de la enfermedad fúngica en pacientes con Influenza A. Por último, esta Tesis observa una mayor mortalidad relacionada con la COVID-19 (primera y segunda ola) respecto a la Influenza A(H1N1)pdm09. Estos resultados pueden haber variado tras vacunación masiva frente al SARS-CoV-2 por lo que se deben continuar realizando estudios de vigilancia epidemiológica.

9. Bibliografía

1. Monto AS, Fukuda K. Lessons From Influenza Pandemics of the Last 100 Years. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 14 de febrero de 2020;70(5):951-7.
2. Belser JA, Tumpey TM. The 1918 flu, 100 years later. *Science.* 19 de enero de 2018;359(6373):255.
3. Sullivan SJ, Jacobson RM, Dowdle WR, Poland GA. 2009 H1N1 influenza. *Mayo Clin Proc.* enero de 2010;85(1):64-76.
4. Smith GJD, Bahl J, Vijaykrishna D, Zhang J, Poon LLM, Chen H, et al. Dating the emergence of pandemic influenza viruses. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 14 de julio de 2009;106(28):11709-12.
5. Labella AM, Merel SE. Influenza. *Med Clin North Am.* julio de 2013;97(4):621-45, x.
6. Brody H. Influenza. *Nature.* 7 de diciembre de 2011;480(7376):S1.
7. Webster RG, Govorkova EA. Continuing challenges in influenza. *Ann N Y Acad Sci.* septiembre de 2014;1323(1):115-39.
8. Liang Y. Pathogenicity and virulence of influenza. *Virulence.* diciembre de 2023;14(1):2223057.
9. Park JE, Ryu Y. Transmissibility and severity of influenza virus by subtype. *Infect Genet Evol J Mol Epidemiol Evol Genet Infect Dis.* noviembre de 2018;65:288-92.
10. Javanian M, Barary M, Ghebrehewet S, Koppolu V, Vasigala V, Ebrahimpour S. A brief review of influenza virus infection. *J Med Virol.* agosto de 2021;93(8):4638-46.
11. Elderfield R, Barclay W. Influenza pandemics. *Adv Exp Med Biol.* 2011;719:81-103.
12. Yuan H, Kramer SC, Lau EHY, Cowling BJ, Yang W. Modeling influenza seasonality in the tropics and subtropics. *PLoS Comput Biol.* junio de 2021;17(6):e1009050.
13. Neumann G, Kawaoka Y. Seasonality of influenza and other respiratory viruses. *EMBO Mol Med.* 7 de abril de 2022;14(4):e15352.
14. Monto AS. Epidemiology of influenza. *Vaccine.* 12 de septiembre de 2008;26 Suppl 4:D45-48.
15. Binns E, Koenraads M, Hristeva L, Flamant A, Baier-Grabner S, Loi M, et al. Influenza and respiratory syncytial virus during the COVID-19 pandemic: Time for a new paradigm? *Pediatr Pulmonol.* enero de 2022;57(1):38-42.

16. Li Y, Reeves RM, Wang X, Bassat Q, Brooks WA, Cohen C, et al. Global patterns in monthly activity of influenza virus, respiratory syncytial virus, parainfluenza virus, and metapneumovirus: a systematic analysis. *Lancet Glob Health*. agosto de 2019;7(8):e1031-45.
17. Petrova VN, Russell CA. The evolution of seasonal influenza viruses. *Nat Rev Microbiol*. enero de 2018;16(1):47-60.
18. Zhang A, Stacey HD, Mullarkey CE, Miller MS. Original Antigenic Sin: How First Exposure Shapes Lifelong Anti-Influenza Virus Immune Responses. *J Immunol Baltim Md 1950*. 15 de enero de 2019;202(2):335-40.
19. Akin L, Gözel MG. Understanding dynamics of pandemics. *Turk J Med Sci*. 21 de abril de 2020;50(SI-1):515-9.
20. Monto AS, Malosh RE, Petrie JG, Martin ET. The Doctrine of Original Antigenic Sin: Separating Good From Evil. *J Infect Dis*. 15 de junio de 2017;215(12):1782-8.
21. Mostafa A, Abdelwhab EM, Mettenleiter TC, Pleschka S. Zoonotic Potential of Influenza A Viruses: A Comprehensive Overview. *Viruses*. 13 de septiembre de 2018;10(9):497.
22. Li YT, Linster M, Mendenhall IH, Su YCF, Smith GJD. Avian influenza viruses in humans: lessons from past outbreaks. *Br Med Bull*. 11 de diciembre de 2019;132(1):81-95.
23. Taubenberger JK, Kash JC. Influenza virus evolution, host adaptation, and pandemic formation. *Cell Host Microbe*. 25 de junio de 2010;7(6):440-51.
24. Fukuyama S, Kawaoka Y. The pathogenesis of influenza virus infections: the contributions of virus and host factors. *Curr Opin Immunol*. agosto de 2011;23(4):481-6.
25. Small PA. Influenza: pathogenesis and host defense. *Hosp Pract Off Ed*. 15 de noviembre de 1990;25(11):51-4, 57-62.
26. Mills CE, Robins JM, Lipsitch M. Transmissibility of 1918 pandemic influenza. *Nature*. 16 de diciembre de 2004;432(7019):904-6.
27. Armstrong SM, Darwish I, Lee WL. Endothelial activation and dysfunction in the pathogenesis of influenza A virus infection. *Virulence*. 15 de agosto de 2013;4(6):537-42.
28. Huang WJ, Tang XX. Virus infection induced pulmonary fibrosis. *J Transl Med*. 7 de diciembre de 2021;19(1):496.
29. Kotnik JH, Cooper S, Smedinghoff S, Gade P, Scherer K, Maier M, et al. Flu@home: the Comparative Accuracy of an At-Home Influenza Rapid Diagnostic Test Using a Prepositioned Test Kit, Mobile App, Mail-in Reference Sample, and Symptom-Based Testing Trigger. *J Clin Microbiol*. 16 de marzo de 2022;60(3):e0207021.

30. Centers for Disease Control and Prevention. (CDC). Interim Recommendations for Clinical Use of Influenza Diagnostic Tests During the 2009-10 Influenza Season. http://www.cdc.gov/h1n1flu/guidance/diagnostic_tests.htm Accessed 26 Mar 2016. Disponible en: http://www.cdc.gov/h1n1flu/guidance/diagnostic_tests.htm
31. Landry ML. Diagnostic tests for influenza infection. *Curr Opin Pediatr.* febrero de 2011;23(1):91.
32. Koski RR, Klepser ME. A systematic review of rapid diagnostic tests for influenza: considerations for the community pharmacist. *J Am Pharm Assoc JAPhA.* 2017;57(1):13-9.
33. Upadhyay P, Reddy J, Proctor T, Sorel O, Veereshlingam H, Gandhi M, et al. Expanded PCR Panel Testing for Identification of Respiratory Pathogens and Coinfections in Influenza-like Illness. *Diagn Basel Switz.* 9 de junio de 2023;13(12).
34. Peaper DR, Landry ML. Rapid diagnosis of influenza: state of the art. *Clin Lab Med.* junio de 2014;34(2):365-85.
35. Canavaggio P, Boutolleau D, Goulet H, Riou B, Hausfater P. Procalcitonin for clinical decisions on influenza-like illness in emergency department during influenza a(H1N1)2009 pandemic. *Biomark Biochem Indic Expo Response Susceptibility Chem.* febrero de 2018;23(1):10-3.
36. Ahn S, Kim WY, Kim SH, Hong S, Lim CM, Koh Y, et al. Role of procalcitonin and C-reactive protein in differentiation of mixed bacterial infection from 2009 H1N1 viral pneumonia. *Influenza Other Respir Viruses.* noviembre de 2011;5(6):398-403.
37. Azijli K, Minderhoud TC, de Gans CJ, Lieveeld AWE, Nanayakkara PWB. Optimal use of procalcitonin to rule out bacteremia in patients with possible viral infections. *J Am Coll Emerg Physicians Open.* junio de 2022;3(3):e12621.
38. Moy AC, Kimmoun A, Merklings T, Berçot B, Caméléna F, Poncin T, et al. Performance evaluation of a PCR panel (FilmArray® Pneumonia Plus) for detection of respiratory bacterial pathogens in respiratory specimens: A systematic review and meta-analysis. *Anaesth Crit Care Pain Med.* diciembre de 2023;42(6):101300.
39. Srinivas P, Rivard KR, Pallotta AM, Athans V, Martinez K, Loutzenheiser S, et al. Implementation of a Stewardship Initiative on Respiratory Viral PCR-based Antibiotic Deescalation. *Pharmacotherapy.* junio de 2019;39(6):709-17.
40. López Roa P, Catalán P, Giannella M, García de Viedma D, Sandonis V, Bouza E. Comparison of real-time RT-PCR, shell vial culture, and conventional cell culture for the detection of the pandemic influenza A (H1N1) in hospitalized patients. *Diagn Microbiol Infect Dis.* abril de 2011;69(4):428-31.
41. Vemula SV, Zhao J, Liu J, Wang X, Biswas S, Hewlett I. Current Approaches for Diagnosis of Influenza Virus Infections in Humans. *Viruses.* 12 de abril de 2016;8(4):96.
42. Smit M, Beynon KA, Murdoch DR, Jennings LC. Comparison of the NOW Influenza A & B, NOW Flu A, NOW Flu B, and Directigen Flu A+B assays, and

immunofluorescence with viral culture for the detection of influenza A and B viruses. *Diagn Microbiol Infect Dis.* enero de 2007;57(1):67-70.

43. https://www.sanidad.gob.es/areas/promocionPrevencion/vacunaciones/gripe_covid19/docs/RecomendacionesVacunacion_Gripe-Covid19.pdf [Internet]. [citado 9 de marzo de 2024]. Disponible en: https://www.sanidad.gob.es/areas/promocionPrevencion/vacunaciones/gripe_covid19/docs/RecomendacionesVacunacion_Gripe-Covid19.pdf
44. Pleschka S. Overview of influenza viruses. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2013;370:1-20.
45. Hutchinson EC. Influenza Virus. *Trends Microbiol.* septiembre de 2018;26(9):809-10.
46. Kilbourne ED. Influenza pandemics of the 20th century. *Emerg Infect Dis.* enero de 2006;12(1):9-14.
47. Institute of Medicine (US) Forum on Microbial Threats. The Threat of Pandemic Influenza: Are We Ready? Workshop Summary [Internet]. Knobler SL, Mack A, Mahmoud A, Lemon SM, editores. Washington (DC): National Academies Press (US); 2005 [citado 25 de mayo de 2019]. (The National Academies Collection: Reports funded by National Institutes of Health). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22156/>
48. Hilleman MR. Realities and enigmas of human viral influenza: pathogenesis, epidemiology and control. *Vaccine.* 19 de agosto de 2002;20(25-26):3068-87.
49. Viboud C, Simonsen L, Fuentes R, Flores J, Miller MA, Chowell G. Global Mortality Impact of the 1957-1959 Influenza Pandemic. *J Infect Dis.* 1 de marzo de 2016;213(5):738-45.
50. Krause JC, Tsibane T, Tumpey TM, Huffman CJ, Albrecht R, Blum DL, et al. Human monoclonal antibodies to pandemic 1957 H2N2 and pandemic 1968 H3N2 influenza viruses. *J Virol.* junio de 2012;86(11):6334-40.
51. Michaelis M, Doerr HW, Cinatl J. An influenza A H1N1 virus revival - pandemic H1N1/09 virus. *Infection.* octubre de 2009;37(5):381-9.
52. Papanicolaou GA. Severe influenza and *S. aureus* pneumonia. *Virulence.* 15 de noviembre de 2013;4(8):666-8.
53. Rello J, Rodriguez A, Ibanez P, Socias L, Cebrian J, Marques A, et al. Intensive care adult patients with severe respiratory failure caused by Influenza A (H1N1)v in Spain. *Crit Care Lond Engl.* 2009;13(5).
54. Robinson KM, Choi SM, McHugh KJ, Mandalapu S, Enelow RI, Kolls JK, et al. Influenza A exacerbates *Staphylococcus aureus* pneumonia by attenuating IL-1 β production in mice. *J Immunol Baltim Md 1950.* 15 de noviembre de 2013;191(10):5153-9.

55. Chertow DS, Memoli MJ. Bacterial coinfection in influenza: a grand rounds review. *JAMA*. 16 de enero de 2013;309(3):275-82.
56. Chien YW, Klugman KP, Morens DM. Bacterial pathogens and death during the 1918 influenza pandemic. *N Engl J Med*. 24 de diciembre de 2009;361(26):2582-3.
57. Sheng ZM, Chertow DS, Ambroggio X, McCall S, Przygodzki RM, Cunningham RE, et al. Autopsy series of 68 cases dying before and during the 1918 influenza pandemic peak. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 27 de septiembre de 2011;108(39):16416-21.
58. Schwarzmans SW, Adler JL, Sullivan RJ, Marine WM. Bacterial pneumonia during the Hong Kong influenza epidemic of 1968-1969. *Arch Intern Med*. junio de 1971;127(6):1037-41.
59. Rynda-Apple A, Robinson KM, Alcorn JF. Influenza and Bacterial Superinfection: Illuminating the Immunologic Mechanisms of Disease. *Infect Immun*. octubre de 2015;83(10):3764-70.
60. van der Sluijs KF, van der Poll T, Lutter R, Juffermans NP, Schultz MJ. Bench-to bedside review: bacterial pneumonia with influenza - pathogenesis and clinical implications. *Crit Care Lond Engl*. 2010;14(2):219.
61. Bartley PS, Deshpande A, Yu PC, Klompas M, Haessler SD, Imrey PB, et al. Bacterial coinfection in influenza pneumonia: Rates, pathogens, and outcomes. *Infect Control Hosp Epidemiol*. febrero de 2022;43(2):212-7.
62. Garcia-Vidal C, Barba P, Arnan M, Moreno A, Ruiz-Camps I, Gudiol C, et al. Invasive aspergillosis complicating pandemic influenza A (H1N1) infection in severely immunocompromised patients. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 15 de septiembre de 2011;53(6):e16-9.
63. Lat A, Bhadelia N, Miko B, Furuya EY, Thompson GR. Invasive aspergillosis after pandemic (H1N1) 2009. *Emerg Infect Dis*. junio de 2010;16(6):971-3.
64. Wauters J, Baar I, Meersseman P, Meersseman W, Dams K, De Paep R, et al. Invasive pulmonary aspergillosis is a frequent complication of critically ill H1N1 patients: a retrospective study. *Intensive Care Med*. 16 de noviembre de 2012;38(11):1761-8.
65. Alshabani K, Haq A, Miyakawa R, Palla M, Soubani AO. Invasive pulmonary aspergillosis in patients with influenza infection: report of two cases and systematic review of the literature. *Expert Rev Respir Med*. 2 de febrero de 2015;9(1):89-96.
66. Tzotzos SJ, Fischer B, Fischer H, Zeitlinger M. Incidence of ARDS and outcomes in hospitalized patients with COVID-19: a global literature survey. *Crit Care Lond Engl*. 21 de agosto de 2020;24(1):516.
67. Oliva A, Ceccarelli G, Borrazzo C, Ridolfi M, D'Ettore G, Alessandri F, et al. Comparison of clinical features and outcomes in COVID-19 and influenza pneumonia patients requiring intensive care unit admission. *Infection*. octubre de 2021;49(5):965-75.

68. Assessment of Deaths From COVID-19 and From Seasonal Influenza | Coronavirus (COVID-19) | JAMA Internal Medicine | JAMA Network [Internet]. [citado 3 de marzo de 2024]. Disponible en: <https://jamanetwork.com/journals/jamainternalmedicine/fullarticle/2766121>
69. Centers for Disease Control and Prevention. (CDC). Interim Recommendations for Clinical Use of Influenza Diagnostic Tests During the 2009-10 Influenza Season. http://www.cdc.gov/h1n1flu/guidance/diagnostic_tests.htm Accessed 26 Mar 2016.
70. Knaus WA, Wagner DP, Draper EA, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med.* 1985;13.
71. Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, Mendonça A, Bruining H. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. *Intensive Care Med.* 1996;22.
72. Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, Bartlett JG, Campbell GD, Dean NC. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis.* 2007;44.
73. Vidal-Cortés P, Díaz Santos E, Aguilar Alonso E, Amezaga Menéndez R, Ballesteros MÁ, Bodí MA, et al. Recommendations for the management of critically ill patients with COVID-19 in Intensive Care Units. *Med Intensiva.* febrero de 2022;46(2):81-9.
74. ROSENBAUM PR, RUBIN DB. The central role of the propensity score in observational studies for causal effects. *Biometrika.* 1 de abril de 1983;70(1):41-55.
75. Hastie T, Tibshirani R. Discriminant adaptive nearest neighbor classification and regression. *Adv Neural Inf Process Syst* [Internet]. 1995 [citado 8 de marzo de 2024];8. Disponible en: https://proceedings.neurips.cc/paper_files/paper/1995/hash/fe709c654eac84d5239d1a12a4f71877-Abstract.html
76. Sekhon JS. Multivariate and Propensity Score Matching Software with Automated Balance Optimization: The Matching package for R. *J Stat Softw.* 14 de junio de 2011;42:1-52.
77. Mosnier A, Caini S, Daviaud I, Nauleau E, Bui TT, Debost E, et al. Clinical Characteristics Are Similar across Type A and B Influenza Virus Infections. *PloS One.* 2015;10(9):e0136186.
78. Irving SA, Patel DC, Kieke BA, Donahue JG, Vandermause MF, Shay DK, et al. Comparison of clinical features and outcomes of medically attended influenza A and influenza B in a defined population over four seasons: 2004-2005 through 2007-2008. *Influenza Other Respir Viruses.* enero de 2012;6(1):37-43.
79. Yap J, Tan CH, Cook AR, Loh JP, Tambyah PA, Tan BH, et al. Differing clinical characteristics between influenza strains among young healthy adults in the tropics. *BMC Infect Dis.* 20 de enero de 2012;12:12.

80. Kim HM, Kang YM, Song BM, Kim HS, Seo SH. The 2009 pandemic H1N1 influenza virus is more pathogenic in pregnant mice than seasonal H1N1 influenza virus. *Viral Immunol.* octubre de 2012;25(5):402-10.
81. Kang YM, Song BM, Lee JS, Kim HS, Seo SH. Pandemic H1N1 influenza virus causes a stronger inflammatory response than seasonal H1N1 influenza virus in ferrets. *Arch Virol.* mayo de 2011;156(5):759-67.
82. Rowe T, León AJ, Crevar CJ, Carter DM, Xu L, Ran L, et al. Modeling host responses in ferrets during A/California/07/2009 influenza infection. *Virology.* 5 de junio de 2010;401(2):257-65.
83. Palese P, Wang TT. Why do influenza virus subtypes die out? A hypothesis. *mBio.* 2011;2(5).
84. Shrestha SS, Swerdlow DL, Borse RH, Prabhu VS, Finelli L, Atkins CY, et al. Estimating the burden of 2009 pandemic influenza A (H1N1) in the United States (April 2009-April 2010). *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 1 de enero de 2011;52 Suppl 1:S75-82.
85. Hernandez JE, Grainger J, Simonsen L, Collis P, Edelman L, Sheridan WP. Impact of the 2009/2010 influenza A (H1N1) pandemic on trends in influenza hospitalization, diagnostic testing, and treatment. *Influenza Other Respir Viruses.* septiembre de 2012;6(5):305-8.
86. Saglanmak N, Andreasen V, Simonsen L, Mølbak K, Miller MA, Viboud C. Gradual changes in the age distribution of excess deaths in the years following the 1918 influenza pandemic in Copenhagen: using epidemiological evidence to detect antigenic drift. *Vaccine.* 22 de julio de 2011;29 Suppl 2:B42-48.
87. Simonsen L, Clarke MJ, Schonberger LB, Arden NH, Cox NJ, Fukuda K. Pandemic versus epidemic influenza mortality: a pattern of changing age distribution. *J Infect Dis.* julio de 1998;178(1):53-60.
88. Hayward AC, Wang L, Goonetilleke N, Fragaszy EB, Bermingham A, Copas A, et al. Natural T Cell-mediated Protection against Seasonal and Pandemic Influenza. Results of the Flu Watch Cohort Study. *Am J Respir Crit Care Med.* 15 de junio de 2015;191(12):1422-31.
89. Lee VJ, Tay JK, Chen MIC, Phoon MC, Xie ML, Wu Y, et al. Inactivated trivalent seasonal influenza vaccine induces limited cross-reactive neutralizing antibody responses against 2009 pandemic and 1934 PR8 H1N1 strains. *Vaccine.* 4 de octubre de 2010;28(42):6852-7.
90. Li Z yuan, Chen J yan, Zhang Y ling, Fu W ming. Partial protection against 2009 pandemic influenza A (H1N1) of seasonal influenza vaccination and related regional factors: Updated systematic review and meta-analyses. *Hum Vaccines Immunother.* 2015;11(6):1337-44.
91. Vatti A, Monsalve DM, Pacheco Y, Chang C, Anaya JM, Gershwin ME. Original antigenic sin: A comprehensive review. *J Autoimmun.* septiembre de 2017;83:12-21.

92. Writing Committee of the WHO Consultation on Clinical Aspects of Pandemic (H1N1) 2009 Influenza, Bautista E, Chotpitayasunondh T, Gao Z, Harper SA, Shaw M, et al. Clinical aspects of pandemic 2009 influenza A (H1N1) virus infection. *N Engl J Med*. 6 de mayo de 2010;362(18):1708-19.
93. Lewis DE, Gilbert BE, Knight V. Influenza virus infection induces functional alterations in peripheral blood lymphocytes. *J Immunol Baltim Md 1950*. 15 de diciembre de 1986;137(12):3777-81.
94. Huang SSH, Banner D, Fang Y, Ng DCK, Kanagasabai T, Kelvin DJ, et al. Comparative analyses of pandemic H1N1 and seasonal H1N1, H3N2, and influenza B infections depict distinct clinical pictures in ferrets. *PloS One*. 2011;6(11):e27512.
95. Oshansky CM, Gartland AJ, Wong SS, Jeevan T, Wang D, Roddam PL, et al. Mucosal immune responses predict clinical outcomes during influenza infection independently of age and viral load. *Am J Respir Crit Care Med*. 15 de febrero de 2014;189(4):449-62.
96. Tate MD, Schilter HC, Brooks AG, Reading PC. Responses of mouse airway epithelial cells and alveolar macrophages to virulent and avirulent strains of influenza A virus. *Viral Immunol*. abril de 2011;24(2):77-88.
97. Paquette SG, Banner D, Zhao Z, Fang Y, Huang SSH, León AJ, et al. Interleukin-6 is a potential biomarker for severe pandemic H1N1 influenza A infection. *PloS One*. 2012;7(6):e38214.
98. Chiaretti A, Pulitanò S, Conti G, Barone G, Buonsenso D, Manni L, et al. Interleukin and neurotrophin up-regulation correlates with severity of H1N1 infection in children: a case-control study. *Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis*. diciembre de 2013;17(12):e1186-1193.
99. Reed C, Chaves SS, Perez A, D'Mello T, Daily Kirley P, Aragon D, et al. Complications among adults hospitalized with influenza: a comparison of seasonal influenza and the 2009 H1N1 pandemic. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 15 de julio de 2014;59(2):166-74.
100. Chang YS, van Hal SJ, Spencer PM, Gosbell IB, Collett PW. Comparison of adult patients hospitalised with pandemic (H1N1) 2009 influenza and seasonal influenza during the «PROTECT» phase of the pandemic response. *Med J Aust*. 18 de enero de 2010;192(2):90-3.
101. Carcione D, Giele C, Dowse GK, Mak DB, Goggin L, Kwan K, et al. Comparison of Pandemic (H1N1) 2009 and Seasonal Influenza, Western Australia, 2009. *Emerg Infect Dis*. septiembre de 2010;16(9):1388-95.
102. Abelenda-Alonso G, Rombauts A, Gudiol C, Meije Y, Ortega L, Clemente M, et al. Influenza and Bacterial Coinfection in Adults With Community-Acquired Pneumonia Admitted to Conventional Wards: Risk Factors, Clinical Features, and Outcomes. *Open Forum Infect Dis*. marzo de 2020;7(3):ofaa066.
103. Madhi SA, Klugman KP, The Vaccine Trialist Group. A role for *Streptococcus pneumoniae* in virus-associated pneumonia. *Nat Med*. 2004;10(8):811-3.

104. 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.* 1 de octubre de 2008;198(7):962-70.
105. Rice TW, Rubinson L, Uyeki TM, Vaughn FL, John BB, Miller RR 3rd, et al. Critical illness from 2009 pandemic influenza A virus and bacterial coinfection in the United States. *Crit Care Med.* mayo de 2012;40(5):1487-98.
106. Cawcutt K, Kalil AC. Pneumonia with bacterial and viral coinfection. *Curr Opin Crit Care.* octubre de 2017;23(5):385-90.
107. Martin-Loeches I, J Schultz M, Vincent JL, Alvarez-Lerma F, Bos LD, Solé-Violán J, et al. Increased incidence of co-infection in critically ill patients with influenza. *Intensive Care Med.* enero de 2017;43(1):48-58.
108. Yang M, Gao H, Chen J, Xu X, Tang L, Yang Y, et al. Bacterial coinfection is associated with severity of avian influenza A (H7N9), and procalcitonin is a useful marker for early diagnosis. *Diagn Microbiol Infect Dis.* febrero de 2016;84(2):165-9.
109. Cuquemelle E, Soulis F, Villers D, Roche-Campo F, Ara Somohano C, Fartoukh M, et al. Can procalcitonin help identify associated bacterial infection in patients with severe influenza pneumonia? A multicentre study. *Intensive Care Med.* mayo de 2011;37(5):796-800.
110. Rodríguez AH, Avilés-Jurado FX, Díaz E, Schuetz P, Trefler SI, Solé-Violán J, et al. Procalcitonin (PCT) levels for ruling-out bacterial coinfection in ICU patients with influenza: A CHAID decision-tree analysis. *J Infect.* febrero de 2016;72(2):143-51.
111. Wolff M, Bouadma L. What procalcitonin brings to management of sepsis in the ICU. *Crit Care Lond Engl.* 2010;14(6):1007.
112. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 15 de junio de 2008;46(12):1813-21.
113. He H, Ding L, Li F, Zhan Q. Clinical features of invasive bronchial-pulmonary aspergillosis in critically ill patients with chronic obstructive respiratory diseases: a prospective study. *Crit Care.* 2011;15(1):R5.
114. Vandewoude K, Blot S, Benoit D, Depuydt P, Vogelaers D, Colardyn F. Invasive aspergillosis in critically ill patients: analysis of risk factors for acquisition and mortality. *Acta Clin Belg.* 9 de octubre de 2004;59(5):251-7.
115. Brun-Buisson C, Richard JCM, Mercat A, Thiébaud ACM, Brochard L, REVA-SRLF A/H1N1v 2009 Registry Group. Early corticosteroids in severe influenza A/H1N1 pneumonia and acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 1 de mayo de 2011;183(9):1200-6.

116. 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.* 24 de febrero de 2011;37(2):272-83.
117. Rodrigo C, Leonardi-Bee J, Nguyen-Van-Tam J, Lim WS. Corticosteroids as adjunctive therapy in the treatment of influenza. *Cochrane Database Syst Rev.* 7 de marzo de 2016;3:CD010406.
118. SEMICYUC | Registro de Gripe A (H1N1) [Internet]. [citado 16 de septiembre de 2018]. Disponible en: <http://www.semicyuc.org/temas/investigacion/grupos-de-trabajo/registro-de-gripe-h1n1>
119. Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M, Crawford JM, McGinn T, Davidson KW, et al. Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area. *JAMA.* 26 de mayo de 2020;323(20):2052-9.
120. Karagiannidis C, Mostert C, Hentschker C, Voshaar T, Malzahn J, Schillinger G, et al. Case characteristics, resource use, and outcomes of 10 021 patients with COVID-19 admitted to 920 German hospitals: an observational study. *Lancet Respir Med.* septiembre de 2020;8(9):853-62.
121. Dreher M, Kersten A, Bickenbach J, Balfanz P, Hartmann B, Cornelissen C, et al. The Characteristics of 50 Hospitalized COVID-19 Patients With and Without ARDS. *Dtsch Arzteblatt Int.* 17 de abril de 2020;117(16):271-8.
122. Arentz M, Yim E, Klaff L, Lokhandwala S, Riedo FX, Chong M, et al. Characteristics and Outcomes of 21 Critically Ill Patients With COVID-19 in Washington State. *JAMA.* 28 de abril de 2020;323(16):1612-4.
123. Kim L, Garg S, O'Halloran A, Whitaker M, Pham H, Anderson EJ, et al. Risk Factors for Intensive Care Unit Admission and In-hospital Mortality Among Hospitalized Adults Identified through the US Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)-Associated Hospitalization Surveillance Network (COVID-NET). *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 4 de mayo de 2021;72(9):e206-14.
124. Allescher J, Rasch S, Wiessner JR, Perez Ruiz de Garibay A, Huberle C, Hesse F, et al. Extracorporeal carbon dioxide removal with the Advanced Organ Support system in critically ill COVID-19 patients. *Artif Organs.* diciembre de 2021;45(12):1522-32.
125. Chang R, Elhousseiny KM, Yeh YC, Sun WZ. COVID-19 ICU and mechanical ventilation patient characteristics and outcomes-A systematic review and meta-analysis. *PloS One.* 2021;16(2):e0246318.
126. Grasselli G, Greco M, Zanella A, Albano G, Antonelli M, Bellani G, et al. Risk Factors Associated With Mortality Among Patients With COVID-19 in Intensive Care Units in Lombardy, Italy. *JAMA Intern Med.* 1 de octubre de 2020;180(10):1345-55.
127. Ludwig M, Jacob J, Basedow F, Andersohn F, Walker J. Clinical outcomes and characteristics of patients hospitalized for Influenza or COVID-19 in Germany. *Int J Infect Dis.* febrero de 2021;103:316-22.

