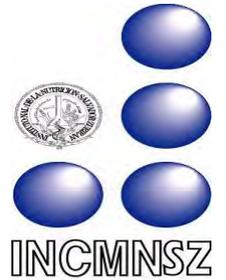




UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



**INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN**

**Descripción Clínica, Epidemiológica y Viroológica de la Infección por el Virus
de Influenza A H1N1 O-P en Dos Hospitales del Sur de la Ciudad de México**

TESIS QUE PARA OBTENER LA SUBESPECIALIDAD EN:

INFECTOLOGÍA

PRESENTA:

RAFAEL FRANCO CENDEJAS

TUTOR:

DR. GUILLERMO M. RUIZ-PALACIOS Y SANTOS

MÉXICO D.F.

2009



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*Descripción Clínica, Epidemiológica y Viroológica de la Infección por el Virus de
Influenza A H1N1 O-P en Dos Hospitales del Sur de la Ciudad de México*

DR. GUILLERMO RUIZ-PALACIOS Y SANTOS

DIRECTOR DEL CURSO DE INFECTOLOGÍA DEL INCMNSZ

DR. LUIS FEDERICO USCANGA DOMÍNGUEZ

JEFE DE ENSEÑANZA DEL INCMNSZ

*Descripción Clínica, Epidemiológica y Viroológica de la Infección por el Virus de
Influenza A H1N1 O-P en Dos Hospitales del Sur de la Ciudad de México*

DR. GUILLERMO RUIZ-PALACIOS Y SANTOS

DIRECTOR DEL CURSO DE INFECTOLOGÍA DEL INCMNSZ

TUTOR

AGRDECIMIENTOS:

A Dios y todos los que están muy cerca de Él

A mis papás, Guadalupe y Rafael, por el amor y comprensión que siempre me han brindado a lo largo de mi camino.

A mis hermana, Mariloly y Paulina, por el excelente ejemplo que he recibido de ellas.

Al INCMNSZ por dejar cumplir otro sueño

Al Dr. Guillermo Ruiz-Palacios y Santos por ser un ejemplo de médico

Al Dr. Arturo Galindo Fraga por ser un excelente amigo y colega

A la Dra. Lourdes Guerrero Almeida por toda su dedicación y ayuda

Al Departamento de Infectología y Microbiología por su incondicional trabajo y ejemplo

A todo el equipo del laboratorio de Biología Molecular por su excelente trabajo y calidez humana (Dr. Sarbelio Moreno, M.C. Pilar Ramos, M.C. Violeta Ibarra, Q Julia Martínez, QFB Claudia Colín, Dr. Jesús Ruiz, B Luis García, QA Ayleen Cárdenas y TL Fernando Ledesma)

A mis compañeros por todo el apoyo brindado para este estudio

Al HGMGG y al Dr. Rafael Valdez por dejarnos participar en dicha Institución

INDICE

Resumen.....	6
Introducción.	7
Antecedentes.....	8
Justificación.....	49
Hipótesis.....	50
Objetivos.....	51
Metodología.....	52
Análisis estadístico.....	58
Resultados.....	60
Discusión.....	85
Conclusiones.....	105
Anexos.....	107
Referencias.	130

RESUMEN

Antecedentes: Entre finales de marzo y principios de abril de 2009 se observó un aumento en el número de infecciones respiratorias agudas en la ciudad de México, así como un mayor número de casos reportados de enfermedad similar a influenza en algunos sitios del país. El agente identificado en los casos fue un nuevo virus de influenza A H1N1 O-P (denominado así por el origen porcino), causante de la actual pandemia.

Objetivo: Determinar las características clínicas, epidemiológicas y moleculares de los pacientes con enfermedad por influenza A H1N1 O-P que acudieron para su atención a dos hospitales del sur de la Ciudad de México.

Material y Métodos: En un período comprendido entre abril y mayo de 2009 se identificaron los pacientes con diagnóstico de influenza A H1N1 O-P. Se analizaron sus datos demográficos, sintomatología, condiciones de comorbilidad, estudios paraclínicos y moleculares efectuados. Se realizaron análisis univariado y multivariado comparando las variables clínicas y de laboratorio para determinar diferencias y factores de riesgo para mortalidad. Se consideró significativa una $p < 0.05$.

Resultados:

De 2080 consultas por infección de vías respiratorias en el período inicial de la pandemia, en ambos hospitales se encontraron 208 casos causados por el virus de influenza A H1N1 O-P en adultos. La mediana de edad fue de 34 años. El 46.6 % tenía una comorbilidad preexistente. La mediana de duración de los síntomas antes de su atención fue de 2 días. Los síntomas más frecuentes fueron fiebre (78.8%), tos (72.6%) mialgias (70.2%), rinorrea (70.2%) y disnea (35.1%). La relación de $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ en pacientes hospitalizados fue 212 al ingreso. Sesenta y dos (29.8%) pacientes requirieron hospitalización, de ellos, 16 (7.6%) requirieron ventilación mecánica invasiva. Diez pacientes murieron; el resto de los pacientes se recuperó. La presencia de una condición médica crónica, duración media de los síntomas de >3 días, disnea, una baja presión arterial media y $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 200$ fueron asociadas con hospitalización. La presencia de valores anormales en la creatinina, pruebas de función hepática, CPK, LDH y relación $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 200$ se asociaron con mortalidad. No hubo diferencia molecular entre los virus. Se determinó la excreción viral en 9 pacientes, observando que fue mayor en los hospitalizados y en aquellos que acudieron tardíamente a valoración.

Conclusiones: El espectro de la infección por el virus de influenza A H1N1 O-P puede variar desde una infección leve hasta la muerte. El riesgo de morir se incrementa al presentarse condiciones comórbidas. El pronóstico fue más favorable en los pacientes que recibieron tratamiento más tempranamente.

INTRODUCCIÓN

La influenza es una enfermedad respiratoria aguda, altamente contagiosa, y responsable de epidemias locales, regionales y mundiales¹. No hay otra enfermedad febril aguda con síntomas respiratorios que pueda propagarse tan rápidamente a un gran número de personas como la influenza. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), en las epidemias anuales se ve afectada entre el 5 y el 15% de la población a nivel mundial, y de tres a cinco millones de casos son severos.

La incidencia del virus de influenza es relativamente alta entre niños y adultos jóvenes. Sin embargo, la mayor morbilidad-mortalidad se presenta entre personas mayores de 65 años y en quienes tienen condiciones médicas preexistentes².

El virus de influenza humana generalmente ocurre anualmente de forma estacional; sin embargo, también puede manifestarse de forma epidémica o pandémica, como ha ocurrido en ocasiones, originando millones de muertes.

Debido a esta amenaza continua para la salud pública, la vigilancia es la única herramienta adecuada para detectar nuevas cepas y adoptar estrategias para evitar consecuencias dramáticas de la difusión de tales cepas³.

ANTECEDENTES

1 Generalidades

1.1 Historia de la infección por influenza

La influenza es una enfermedad respiratoria aguda altamente contagiosa, la cual parece que ha afectado a los humanos desde los tiempos antiguos. Una de estas epidemias fue reportada por Hipócrates en el año 412 a.C. Numerosos episodios similares también fueron descritos en la Edad Media.

El término influenza fue introducido en Italia al inicio del siglo XV para describir una epidemia que fue atribuida a la *influenza* de las estrellas. El término fue adoptado por los ingleses en el siglo XVIII; durante el mismo período, los franceses denominaron a la enfermedad *la grippe*.

La primera pandemia reportada ocurrió en 1580 y se cree que se originó en Asia; de ahí se dispersó a África y Europa. Durante los siguientes tres siglos, a pesar de que el seguimiento fue irregular y no muy preciso, hubo varias pandemias.

En los pasados 100 años ha habido cinco grandes pandemias: en 1890, 1900, 1918, 1957 y 1968. En término de número de víctimas humanas, la gran pandemia de 1918-19, denominada “Influenza española”, no tuvo precedentes. Las estimaciones van de un mínimo de 20 millones de muertes en todo el mundo, pero existen estimaciones de más del doble de este número. En los Estados Unidos de América (E.U.A) fueron reportadas más de 500,000 muertes. En otras regiones del mundo, las estimaciones fueron iguales o incluso mayores.

A la devastadora influenza española siguieron la llamada Influenza Asiática de 1957 y posteriormente la Influenza de Hong Kong en 1968, ocasionadas cada una por diferentes cepas virales⁴. En ambas pandemias se observó una tendencia a la afección de las personas en los extremos de la vida, así como a aquellas que padecían una enfermedad crónica⁵; las complicaciones observadas fueron asociadas a la neumonía viral *per se*, gracias al avance de los antibióticos⁶.

En mayo de 1997 se encontró en circulación en la población aviar de Hong Kong un nuevo subtipo, la denominada influenza aviar. Esta variedad se asoció con una elevada mortalidad en aves, y se comenzaron a reportar casos esporádicos en humanos. En los años posteriores, el virus se extendió por varias regiones del sureste de Asia, África y Europa en la población aviar silvestre. A partir de 2004, se incrementó el número de casos en humanos, caracterizándose por una presentación clínica grave y una elevada mortalidad, pero sin que se haya encontrado al momento transmisión sostenida persona-persona⁶.

1.2 Epidemiología de la infección por influenza

La infección por el virus de influenza es una de las más frecuentes y significativas que afectan a las vías respiratorias, ya que ocasiona una alta morbi-mortalidad. Los grupos de población más afectados son los niños, adultos mayores y personas con enfermedades concomitantes ⁷.

1.2.1 Estacionalidad de la infección por el virus de influenza

El hecho de que la influenza se comporte de forma estacional, con mayor actividad durante el invierno, ha facilitado los estudios para establecer su impacto en la salud pública. En los E.U.A., la influenza estacional causa aproximadamente 200,000 hospitalizaciones y 36,000 muertes anualmente⁷. Generalmente, se establece en la comunidad durante 12 semanas o más. En países del hemisferio norte también se reportan brotes fuera de esta temporalidad⁸. En otras áreas del mundo, sobre todo en aquellas que no cuentan con una estación de invierno, los patrones de transmisión son diferentes, y es interesante observar la transmisión durante la temporada de las lluvias⁹. El caso extremo de estas zonas se encuentra en el Ecuador, donde el virus se puede identificar en cualquier momento del año. A pesar de esto, se pueden llegar a observar picos en la transmisión en estas regiones ¹⁰⁻¹¹.

1.3 Pandemias

La palabra pandemia se origina del griego παν (*pan* = todo) + δῆμος (*demos* = pueblo) y se refiere a aquella enfermedad que se extiende a muchos países o que afecta a la mayor parte de los individuos de una localidad o región¹².

Además de los brotes estacionales anuales, la influenza ha ocasionado pandemias con intervalos que van de 8 a 40 años. En estos eventos, hasta 50% de la población se puede infectar en un mismo período, y el número de muertes puede incrementarse dramáticamente¹³⁻¹⁴, como lo fue la devastadora pandemia de 1918. Es por este comportamiento característico que se esperaba una pandemia a finales del siglo XX o principios del XXI.

1.3.1 Características de las pandemias

Se ha observado a lo largo de la historia que las pandemias de influenza ocurren cumpliendo con ciertas características: 1) Tienden a ocurrir en el invierno, cuando el frío, el hacinamiento y la humedad se encuentran elevadas; sin embargo, puede haber excepciones. 2) Se observan en la parte sur y oriente de los continentes y se propagan hacia el norte y occidente. 3) Las pandemias ocurren cuando se presenta una nueva variante viral, con cambios antigénicos en comparación con cepas previas, para la que no hay memoria inmunológica en la población¹⁵.

1.4 Situación epidemiológica de la Influenza en México

México ha sido afectado en las pandemias que anteriormente se han mencionado; sin embargo, la información precisa sobre la morbi-mortalidad durante las mismas no es bien conocida.

A pesar de lo anterior, el país tiene una larga historia de colaboración con los sistemas internacionales de vigilancia. Se tiene registro de varias décadas sobre las cepas virales que han circulado en nuestro país. (Tabla I)

Tabla I. Cepas virales identificadas en México

Año	Aislamientos virales
1957	A/ASIAN/57 (H2N2)
1974-1975	A/PORT CHALMERS/1/72, A/MEXICO/1/75 (H3N2), A/VICTORIA/3/75
1975-1976	A/MEXICO/4-6/76 (H3N2), A/BANGKOK/1/79 (H3N2)
1979-1980	A/BANGKOK/1/79 (H3N2)
1980-1981	A/AICHI/2/68 (H3N2)
1983-1984	B/FILIPINAS/1/56
1984-1985	A/CHILE/1/83 (H1N1), A/LENINGRADO/360/86 (H3N2)
1987-1988	A/WASHINGTON/15/91 (H3N2)
1990-1991	A/BEIJING/353/89-LIKE (H3N2)
1991-1992	B/PANAMA/45/90, A/TAIWAN/1/86 (H1N1)
1992-1993	A/WASHINGTON/15/91 (H3N2), A/BEIJING/32/92-LIKE (H3N2)
1993-1994	B/PANAMA/45/90
1997-1998	B/BEIJING/184/93, B/GUANGDONG/05/94, B/HARBIN/07/94
1999-2000	A/NEW CALEDONIA/20/99 (H1N1), A/SIDNEY/05/97(H3N2), B/YAMANASHI/166/98, B/BEIJING/184/932000
2000-2001	A/NEW CALEDONIA/20/99 (H1N1), A/PANAMA/2007/99 (H3N2), B/YAMANASHI/166/982001
2001-2002	A/NEW CALEDONIA/20/99 (H1N1), A/PANAMA/2007/99 (H3N2), B/SICHUAN/379/99, B/HONG KONG/330/2001
2002-2004	A/NEW CALEDONIA/20/99 (H1N1), A/PANAMA/2007/99 (H3N2), A/KOREA/770/2002-LIKE (H3N2) B/BRISBANE/32/2002
2004-2005	A/NEW CALEDONIA/20/99 (H1N1), A/CALIFORNIA/07/2004 (H3N2), B/FLORIDA/07/2004, B/OHIO/01/2005

Fuente: SISVEFLU 2007

1.4.1 Morbilidad en México

De los últimos años se tiene información sobre los casos de neumonía, que es la principal complicación de la infección por influenza. Se ha observado un descenso entre los años 2000 y 2005; sin embargo, hay que tomar en consideración para la interpretación de estos datos que es muy posible que exista un subregistro, ya que a pesar de los centros centinela, es conocido que no existía en el país una infraestructura adecuada para el diagnóstico de laboratorio de esta infección (Tabla II)

Tabla II. Morbilidad por influenza por año y entidad federativa en México

1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005
Mor. 1.21	D.F. 3.4	Yuc. 5.3	Nav. 1.02	D.F. 2.4	Nav. 0.70	D.F. 1.80
Chih. 1.16	Nav. 2.4	Camp. 1.5	Son. 0.84	Camp. 1.9	D.F. 0.41	S.L.P. 1.49
D.F. 0.93	Camp. 1.8	D.F. 0.40	Hgo. 0.47	Yuc. 1.2	Zac. 0.28	Hgo. 0.83
Camp. 0.86	Hgo. 1.4	Hgo. 0.30	D.F. 0.46	Son. 1.7	Yuc. 0.16	Qro. 0.68
Son. 0.09	Mex. 0.69	Nav. 0.30	Dgo. 0.45	S.L.P. 1.0	Hgo. 0.08	B.C. 0.57
S.L.P. 0.08	B.C. 0.62	Mex. 0.03	N.L. 0.14	N.L. 0.63	Oax. 0.08	Son. 0.32
Gro. 0.06	Yuc. 0.53	Pue. 0.03	Yuc. 0.05	Hgo. 0.59	N.L. 0.04	Tlax. 0.27
Jal. 0.06	Mich. 0.41	Tams. 0.03	S.L.P. 0.04	Chih. 0.33	Mex. 0.02	N.L. 0.21
Mex. 0.04	Dgo. 0.39		Chih. 0.03	Zac. 0.21		Nav. 0.20
	N.L. 0.23		Mex. 0.02	Nav. 0.20		Chih. 0.14
	Zac. 0.21		Mich. 0.02	Mex. 0.16		Jal. 0.13
	Oax. 0.16			Sin. 0.07		Gto. 0.11
	Sin. 0.15			Gto. 0.06		Mex. 0.02
	Tams. 0.13			Tams. 0.03		Pue. 0.01
	Coah. 0.12			Ver. 0.01		
	Jal. 0.10					
	Chih. 0.09					
	Ver. 0.09					
	Tab. 0.05					
	Gto. 0.02					
	Pue. 0.01					
0.16	0.56	0.15	0.09	0.39	0.05	0.27

*Tasa por 100 000 habitantes

Fuente: Anuarios estadísticos de la DGE/Boletín Epidemiología, Vol. 22, semana 52, 2005

Durante el periodo 1999-2005 las tasas nacionales de infección por influenza mostraron variaciones entre 0.06 a 0.56 por 100 000 habitantes. La tasa más alta se observó en el año 2000. Los grupos de edad más afectados fueron niños <1 año y de 1-4 años de edad (Tabla III)

Tabla III. Incidencia de influenza por grupo de edad y año en México

	<1	1-4	5-14	15-24	25-44	45-64	65 y +	total
2005	0,52	0,58	0,46	0,20	0,17	0,15	0,11	0,27
2004	0,10	0,15	0,10	0,03	0,04	0,03	0,02	0,06
2003	1,81	1,31	0,61	0,23	0,17	0,13	0,06	0,39
2002	0,45	0,30	0,22	0,03	0,03	0,02	0,02	0,10
2001	0,53	0,27	0,23	0,09	0,11	0,12	0,04	0,15
2000	1,76	1,22	0,72	0,32	0,47	0,35	0,21	0,56
1999	0,37	0,23	0,09	0,13	0,12	0,29	0,35	0,16

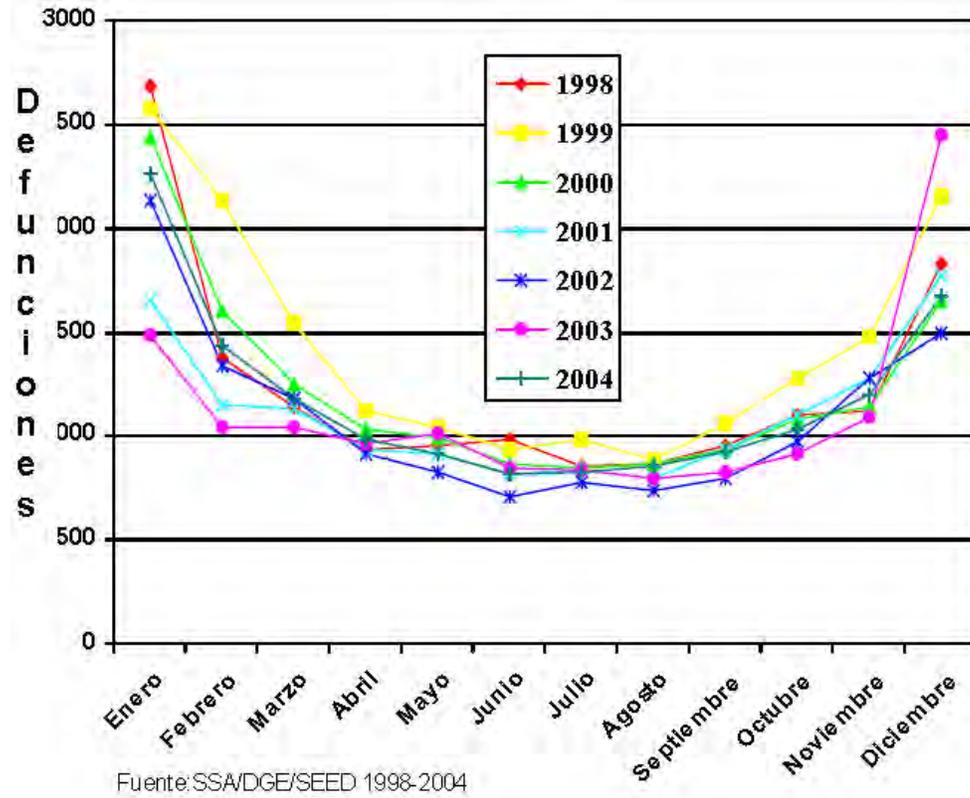
+ Tasa por 100,000 habitantes

Fuente: Anuarios Estadísticos de la DGE

1.4.2 Mortalidad en México

En cuanto a la mortalidad por influenza estacional, en el período 1999-2003 se observó un descenso de 17.7 a 12.8 muertes por 100,000 habitantes. Por grupo de edad, el comportamiento fue homogéneo, aunque los más afectados fueron las personas de ≥ 65 años y niños <1 año. Las tasas en adultos mayores variaron entre 149.6 y 205.8 defunciones por 100, 000 habitantes, en los niños entre 100.1 y 171.3 decesos por 100, 000 habitantes. La mortalidad sigue también el patrón estacional de la influenza, con un mayor número de muertes en los meses de invierno. (Figura A)

Figura A. Defunciones por enfermedades agudas de vías respiratorias superiores e influenza por mes y año de ocurrencia en México



1.5 Descripción del virus de influenza

1.5.1 Taxonomía

Los virus de influenza son virus que contienen ARN y pertenecen a la familia Orthomyxoviridae y están clasificados en tres distintos tipos: **Influenza A**, **Influenza B** e **Influenza C**, de acuerdo a grandes diferencias antigénicas ¹⁶. Además, hay diferencias en cuanto a la organización génica, estructura, hospedero, epidemiología y características clínicas entre los tres tipos de virus ¹⁷.

1.5.2 Nomenclatura

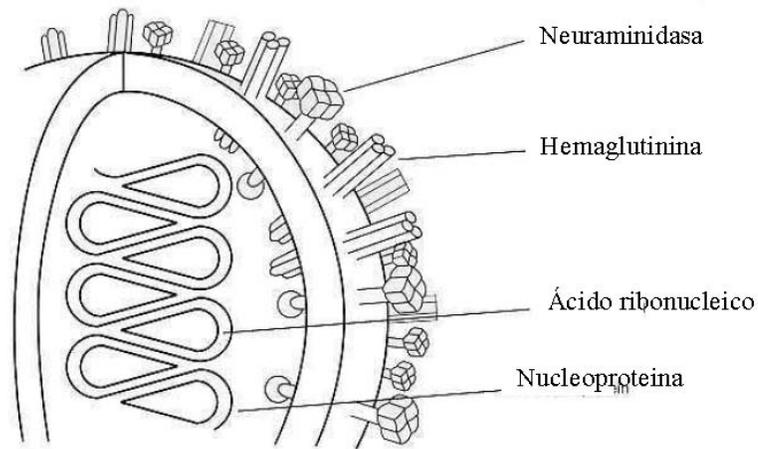
El nombre de cada una de las cepas de influenza se asigna según el virus, el lugar donde se aisló por primera vez, número de aislamiento, año de aislamiento y el tipo mayoritario de las proteínas de Hemaglutinina (HA) y Neuraminidasa (NA)¹⁷. Ejemplo:

Tipo	Ciudad de primer aislamiento	Número del aislamiento	Año del aislamiento	Tipo mayoritario de HA y NA
A	Singapur	6	86	(H1N1)

1.5.3 Características Morfológicas

Los virus de influenza pueden tomar varias formas, que varían de partículas esféricas a formas filamentosas, midiendo entre 80 y 120 nm de diámetro y 200-300 nm de longitud.¹⁸ Es un virus envuelto, con una membrana lipídica originada en la célula hospedera, a través de la cual se observa una de las características más distintivas de este virus, que son las estructuras que se proyectan desde su superficie hacia el exterior, conformadas por la HA y la NA¹⁹. (Figura B)

Figura B. Estructura morfológica del virus de Influenza



1.5.4 Genoma viral

La organización del genoma del virus es bastante peculiar. Los virus A y B codifican por lo menos 10 polipéptidos en ocho segmentos genómicos de ARN de cadena sencilla de sentido negativo. Cada segmento está conformado por el ARN, tres polimerasas (PB2, PB1 y PA en donde, A=ácida y B=básica dependiendo de algunos aminoácidos), y una proteína de la nucleocápside (NP). Este conjunto forma el complejo ribonucleoproteína (RNP), que es la unidad funcional de replicación mínima, y tiene la función de transcribir el ARN mensajero y sintetizar el ARN complementario (un ARN de sentido positivo, antigenómico), y transcribir a su vez éste en ARN viral.

1.5.5 Estructura molecular

Desde el punto de vista molecular el virus cuenta con 7 proteínas estructurales y 2 proteínas no estructurales.

1.- Hemaglutinina (HA): Se encuentra en la envoltura viral y corresponde a glicoproteínas, de las cuales se han descrito hasta la fecha 16 tipos. Cada una de éstas mide aproximadamente 14 nm de largo y 4 nm de ancho y tiene una forma de bastón.

Corresponde a un trímero de polipéptidos de HA, con un peso molecular de aproximadamente 224,640 daltones. Esta proteína se encarga del reconocimiento

y unión a receptores con residuos de ácido siálico específicos de las células blanco.

2.- Neuraminidasa (NA): Se han descrito hasta el momento 9 diferentes tipos. Esta proteína es un tetrámero con forma de hongo y un peso molecular aproximado de 240,000 daltones. Es una enzima que lleva a cabo la escisión del ácido siálico de las glicoproteínas de la célula hospedera, permitiendo la liberación de viriones y evitando la agregación entre ellos. Recientemente, se ha descrito que puede tener un papel importante en la disrupción de la capa de moco del epitelio respiratorio, favoreciendo la interacción entre el virus y las células del hospedero.

3.- Proteínas M: Funcionan como canales iónicos. Se encuentran tanto en la envoltura viral (M2), como en el interior de los viriones (M1), dando estabilidad a éste y controlando el transporte del contenido genómico.

4.- Polimerasa de proteína básica (PB) y proteína ácida (PA): Existen 2 tipos de la primera y un tipo de la segunda. Estas proteínas se encuentran asociadas al ARN genómico, formando las nucleocápsides. Estas proteínas internas son un blanco importante para los linfocitos T citotóxicos virus-específicos.

5.- Proteínas no estructurales (NS): Existen 2 tipos. Se encuentran en el interior del virus y su función es el transporte de ribonucleoproteínas hacia el citoplasma.

1.5.6 Receptores del virus de influenza

En 1941 George Hirst reportó que el virus de influenza cultivado en los embriones de pollo era capaz de aglutinar eritrocitos²⁰. Posteriormente, Gottschalk observó que dicha unión era dependiente de ácidos siálicos²⁰. Estas moléculas pertenecen a una familia de monosacáridos de nueve carbonos, los cuales están asociados a los azúcares de glicoproteínas o glicolípidos²¹.

Los tipos más comunes de ácidos siálicos en los mamíferos son el ácido N-acetilneuramínico (Neu5Ac) y N-glicolilneuramínico (Neu5Gc), que son los receptores del virus de influenza²¹. El Neu5Gc está presente en varias especies animales; sin embargo, no puede ser sintetizado por los seres humanos, quienes lo adquieren de la dieta. Estos ácidos siálicos se adhieren a la porción terminal de los azúcares de glicoproteínas y glicolípidos por medio de las enzimas denominadas sialiltransferasas²².

Un carbohidrato con capacidad de unir ácidos siálicos es la galactosa, formando N-acetilglucosamina y N-acetilgalactosamina. El ácido siálico que se une a la galactosa puede estar tanto en el carbono 3 como en el 6 de dicho azúcar, formando así la unión glucosídica α -2,3 ó α -2,6.²¹ Característicamente, los virus de influenza humana y porcina aglutinan los eritrocitos cuyo ácido siálico terminal es α -2,6, y los virus aviares aglutinan a los eritrocitos con la terminación α -2,3²³. En cuanto al tipo de componente con el cual los receptores tienen contacto en el tejido animal, varía de especie a especie. Así, el cerdo tiene receptores tanto α -2,3 como α -2,6, por lo que esta especie animal juega un papel muy importante en la fisiopatogenia de las pandemias. En la Tabla IV se muestran los diferentes receptores que tienen algunas especies.

Tabla IV. Receptores de ácido siálico presentes en varias especies.

Huésped	α2-6	α 2-3
Humano	+	-
Cerdo	+	+
Pato	-	+
Caballo	-	+

1.5.7 Replicación viral

La infección por el virus de influenza involucra la unión de la HA con los receptores de ácido siálico que se encuentran en la superficie celular. Una vez unido a éstos, se internaliza al citoplasma por medio de vesículas recubiertas por clatrina²⁴⁻²⁵. El pH ácido de los endosomas activa el proceso por medio del cual se promueve un cambio estructural de la HA, favoreciendo la unión con la membrana endosómica.

A su vez, el canal de H⁺ de la proteína estructural M2 induce la disociación de la proteína M1 de las RNPv, lo cual es esencial para la migración de las RNP hacia el núcleo. Así el contenido viral se libera en el citoplasma, para posteriormente dirigirse hacia el núcleo e iniciar la expresión y replicación del genoma viral²⁵.

Una vez que el virus replica su material genético, se lleva a cabo el proceso de lectura y transcripción, para la posterior síntesis de proteínas. Éstas sufrirán modificaciones postranscripcionales en el aparato de Golgi, en donde se agregarán carbohidratos y lípidos. Posteriormente, las proteínas migran a la membrana celular, en donde se formará una nueva partícula viral, proceso en el cual participa la proteína M1. Una vez que dicha partícula adquiere el contenido necesario, finalmente se libera. En este proceso, la NA previene la adhesión de las partículas virales a los residuos de ácido siálico de la célula hospedera mientras son liberadas²⁶.

1.5.8 Variación antigénica

Una de las características más importantes del virus de influenza es la frecuencia con la que ocurren cambios en su antigenicidad. Dicha variación explica el particular comportamiento epidemiológico de la infección viral.

Esta variación involucra principalmente a dos de las proteínas externas del virus, la HA y la NA. Se han descrito 2 tipos de variaciones.

- a) **Variación antigénica (*antigenic drift*):** se refiere a los cambios antigénicos relativamente menores que ocurren frecuentemente (cada año o cada pocos años). Se acepta que su mecanismo es una acumulación gradual de cambios de aminoácidos en uno o más de los cinco principales sitios antigénicos de la HA ²⁷. Así pues, los anticuerpos generados por exposición a cepas anteriores no neutralizan las variantes antigénicas nuevas; se lleva a cabo una selección inmunológica y la variante antigénica sustituye a las cepas anteriores como el virus predominante.

b) **Variación genética (*antigenic shift*):** se refiere a las modificaciones antigénicas mayores, las cuales ocurren aproximadamente cada 10 a 30 años. El producto de esta variación son virus nuevos, a los que la población no tiene ninguna inmunidad; puede haber muy poca o nula relación serológica entre los antígenos HA o NA.

El alto grado de diferencia genética entre subtipos de influenza A, de 30 % o más, es el origen de las nuevas cepas causantes de pandemias. La explicación más plausible para su origen tiene en cuenta tres características: que el virus tiene un genoma segmentado, que se producen pandemias sólo con el virus de influenza A y que este virus tiene una gran cantidad de reservorios animales.

El patrón de cambio de la HA y la NA durante las pandemias más recientes se conoce tanto por el aislamiento del virus, como por estudios serológicos de individuos que vivieron durante los períodos de pandemias previas.

Las pandemias que han dejado huella en la humanidad fueron originadas por los siguientes subtipos de virus:

1918-1919	1957	1969	1997, 2004
H1N1	H2N2	H3N2	H5N1

1.6 La nueva cepa viral en circulación

Estudios serológicos han logrado documentar infección por influenza porcina desde 1958,²⁸ y el primer aislamiento de virus de influenza porcina causante de infección en humanos fue en 1974, en un paciente con enfermedad de Hodgkin quien vivía en una granja para puercos²⁹.

Estudios de seroprevalencia han mostrado la presencia de anticuerpos contra influenza porcina en el personal que labora en criaderos para cerdos³⁰. Así pues, la transmisión de influenza porcina hacia los humanos se ha presentado de forma esporádica y se ha relacionado a exposición ambiental y ocupacional³¹.

El virus de influenza porcina A H1N1 se documentó por primera vez en 1930 en E.U.A; sin embargo, no se había aislado en el continente europeo hasta 1976 en que un embarque de cerdos arribó a Italia, esparciéndose rápidamente el virus a la población porcina³².

Pocos años después un nuevo virus A H1N1 de origen aviar se esparció por la población porcina, proveniente de patos salvajes³³. Para 1979, esta cepa reemplazó a la clásica A H1N1 norteamericana³⁴⁻³⁵. En 1998 un virus de influenza rearrreglado se aisló en la población porcina en E.U.A³⁶.

Los análisis genéticos demostraron la composición de material genómico complejo, compuesto por 5 segmentos de la cepa clásica norteamericana, pero los segmentos de los genes de la polimerasa derivaban tanto de las aves (PA y PB2), como del humano (PB1)³⁷⁻³⁸. En el Anexo 1 se muestra una gráfica con la historia del triple rearreglo genético.

Se aconseja sospechar de la presencia de una variante viral cuando se presenta un caso de influenza no esperado en una comunidad y que pudiera estar asociado al contacto con animales. Cuando esto ocurra o se sospeche, se debe realizar un comunicado a las autoridades sanitarias³⁸.

Desde finales de los años noventa se encuentran en circulación varias cepas del virus de influenza A (H1N1, H3N2 y H1N2). Esporádicamente, en población porcina se reportó un subtipo particular de H1, con un rearreglo que incluye en su genoma segmentos de influenza aviar, humana y porcina, conocido como triple rearreglo^{36, 38-39}.

El análisis genético de las cepas mencionadas, demostró que la infección era causada por un nuevo rearreglo de seis segmentos del ya conocido virus de influenza porcina (con tres rearreglos), y dos segmentos del virus de influenza porcina A H1N1 de linaje euroasiático⁴⁰⁻⁴¹.

La primera infección humana con este nuevo virus que fue informada al Centro de Control de Enfermedades de Atlanta E.U.A. (CDC) se produjo en diciembre de 2005⁴². Entre diciembre de 2005 y febrero de 2009 el CDC recibió 11 notificaciones más³⁸. Dichas notificaciones aclaran la ausencia de exposición a cerdos en más de la mitad de los casos, una mediana de incubación de 3.5 días (3-9 días), sin poder descartar la exposición a un humano con dicha enfermedad. Los síntomas clínicos en estos pacientes fueron inespecíficos e indistinguibles de los ocasionados por la influenza humana. Sin embargo, algunos de ellos presentaron gravedad en síntomas respiratorios bajos, así como diarrea. Dos pacientes requirieron tratamiento en terapia intensiva y todos se recuperaron. Muy probablemente hubo muchos más casos, los cuales pasaron desapercibidos.

1.6.1 Detección de la nueva cepa viral en México

Entre marzo y abril de 2009, en México se reportó un incremento en el número infecciones respiratorias agudas en varias zonas del país⁴³. Algunos de estos casos se presentaron como brotes, como el de una pequeña comunidad en el estado de Veracruz, los cuales fueron registrados por la Secretaría de Salud y notificados a las redes internacionales⁴⁴. El 23 de abril se informó a la población que varios de estos casos de enfermedad respiratoria fueron confirmados como influenza A H1N1 rearrreglado. El análisis de la secuencia genética mostró que estas cepas eran del mismo tipo que la encontrada en casos de influenza ocasionada por cepas H1N1 con triple rearrreglo genético encontrada en dos niños en California⁴⁵.

1.7 Cuadro clínico de la infección por el virus de influenza

1.7.1 Período de incubación

El período de incubación del virus de Influenza es variable, sin embargo se dice que va de 1 a 4 días, con un promedio de 2 días⁴⁶.

El espectro de la enfermedad puede ser muy variado, desde una infección asintomática hasta formas que ponen en peligro la vida. Se menciona que en períodos de epidemia la infección ocurre en 10% de la población, siendo sintomática en 50% de éstos, y tiene una mortalidad de hasta 1%¹⁵.

La enfermedad se puede dividir en 2 grandes grupos, la no complicada y la complicada.

1.7.2 Influenza no complicada

1.7.2.1 Adultos

Se caracteriza por aparición súbita de los síntomas de afección de vías respiratorias superiores (e.g, tos seca, dolor de garganta), acompañados por una enfermedad constitucional o sistémica (e.g, fiebre, cefalea, calosfríos, mialgias y malestar general)⁴⁷; también se han reportado casos en los que se refieren náuseas, vómito, diarrea y dolor abdominal. En los adultos mayores también pueden presentarse *delirium*, caídas, inmovilidad e incontinencia⁴⁸.

Los hallazgos a la exploración física en la presentación no complicada son inespecíficos y raramente alterados. La frecuencia respiratoria, la saturación de oxígeno y la radiografía de tórax generalmente son normales.

En los exámenes de laboratorio se observa leucocitosis o leucopenia, con linfocitosis o neutrofilia. Las pruebas de función hepática pueden mostrar ligera elevación de las aminotransferasas. Los marcadores de inflamación (proteína C reactiva y velocidad de sedimentación globular), suelen estar elevados.

Cuando tiene una presentación no complicada, la enfermedad se autolimita en aproximadamente 5 días, con persistencia de la tos hasta por 3 semanas.

1.7.2.2 Niños

Las manifestaciones clínicas en los niños son muy similares a las observadas en los adultos, caracterizadas por un inicio agudo, incluyendo fiebre, dolor de garganta y tos⁴⁹. Se piensa que algunos de los síntomas que también se presentan en los adultos, como cefalea, mialgias, astenia o mareos, también se pueden observar en los niños, aunque son difíciles de determinar. Comparado con los adultos, la presencia de diarrea y rinorrea es más frecuente⁴⁹⁻⁵⁰. Otros síntomas en la infancia incluyen irritabilidad, disminución en la ingesta, vómito, diarrea, letargia, disnea y apnea. Estos síntomas no son específicos y pueden ser atribuidos a otras enfermedades graves si no se puede realizar de forma correcta el diagnóstico de influenza⁵¹. La duración del cuadro clínico en los niños es usualmente de 5 a 8 días⁵⁰.

Dentro de las enfermedades respiratorias con las que se puede confundir están la laringotraqueobronquitis, otitis media aguda, bronquiolitis o el asma ⁵².

1.7.3 Influenza Complicada

Las complicaciones afectan especialmente a ciertos grupos como aquellos que sufren cardiopatías o neumopatías, receptores de trasplantes y, en general, niños con alguna enfermedad subyacente, así como mujeres embarazadas ⁵³.

1.7.3.1 Complicaciones Respiratorias

Las complicaciones graves más frecuentes y que originan el mayor número de muertes son las pulmonares. Éstas se pueden clasificar en 2 categorías:

a) Neumonía primaria por influenza. Corresponde al 18% de los pacientes admitidos a hospitalización. A pesar de que la infección por influenza contribuye poco a las neumonías en general, la neumonía por influenza es subestimada ya que es una enfermedad difícil de diferenciar de otras infecciones respiratorias solamente con base en el cuadro clínico. Su presentación es generalmente abrupta y dramática, progresando en 24 hrs a falla respiratoria y choque.

La recuperación de estos casos ocurre generalmente entre 5 y 16 días, y el daño pulmonar es frecuente. La mortalidad en este grupo de pacientes es del 10-20% ⁴⁷.

b) Neumonía bacteriana secundaria. Las bacterias asociadas más comúnmente a la infección por influenza son *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Haemophilus influenzae*. Se han descrito casos graves y mortales asociados a la coinfección por estos microorganismos ⁵⁴.

Se han descrito algunos mecanismos por los cuales las bacterias actúan en sinergia con el virus, como son una mayor unión e invasión bacteriana, incremento en la replicación viral y modificación de la respuesta inflamatoria. Por ejemplo, con *S. pneumoniae*, cuando la neuraminidasa escinde el ácido siálico para liberar nuevas partículas desde el hospedero, ocurre daño al epitelio exponiendo sitios de unión para la adherencia del neumococo ⁵⁵. Se han descrito múltiples reportes de neumonías secundarias por otros microorganismos menos frecuentes, tales como *Chlamydomphila pneumoniae*, estreptococo β hemolítico, *Legionella pneumophila* y *Aspergillus* spp, éste último en pacientes con inmunocompromiso ⁵⁶⁻⁵⁸.

También hay evidencia de que el virus de influenza es un factor importante en la patogénesis de la otitis media ⁵⁹. Aproximadamente 35% de los niños experimentan otitis media aguda cada año ⁶⁰. Ozgur *et al* demostraron una reducción en la incidencia de otitis media aguda de 30% en los niños vacunados contra influenza ⁶¹.

1.7.3.2 Complicaciones Neurológicas

El virus de la influenza se ha relacionado con una gran variedad de complicaciones neurológicas incluyendo los síndromes de Reye y Guillain-Barré, mielitis transversa, encefalopatía y crisis convulsivas⁶²⁻⁶³, siendo esta última la complicación neurológica más frecuentemente reportada⁶⁴. El inicio abrupto de crisis convulsivas y coma, pocos días después del inicio de fiebre, es un indicador prominente de la afección del sistema nervioso central durante la infección⁶⁵. La encefalopatía relacionada a la infección es realmente rara, pero su presencia se ha relacionado con una mortalidad de hasta 6%, y en la mayoría de los pacientes no se puede demostrar la presencia del virus en el líquido cefalorraquídeo⁶⁶.

En cuanto al síndrome de Reye, el cual está relacionado con la administración de salicilatos, es una de las encefalopatías mejor asociadas con las epidemias de influenza; sin embargo, se ha observado que la administración de medicamentos antipiréticos no salicilados también puede desarrollar este síndrome⁶⁵. Morishima *et al.* en una serie de 148 casos en la temporada 1998-1999, observaron que había algunas diferencias entre el síndrome de Reye y la encefalopatía/encefalitis, tales como la asociación con influenza B y la presencia de hipoglicemia y/o hiperamonemia, que se asocian con el síndrome de Reye⁶⁵.

1.7.3.3 Complicaciones musculares

La miositis generalmente es una complicación benigna que usualmente ocurre en la fase de convalecencia de la infección y se relaciona con mayor frecuencia a la infección por influenza B. En estudios moleculares el virus se ha detectado en el tejido muscular⁶⁷. Fue descrita por primera vez en 1957 por Lundberg, bajo el nombre de *mialgia cruris epidemica*⁶⁸. Generalmente afecta más al género masculino. Se caracteriza por un fuerte dolor muscular, con mayor predominio en las piernas; tiene una presentación aguda, causando dificultad para la deambulación. Se presenta generalmente entre el primer y quinto día posteriores a la infección viral, y se observa elevación de las cifras de creatininfosfoquinasa, reportándose desde 200 hasta 6026 U/L.

La afección generalmente es limitada y persiste por menos de una semana. En las series reportadas, se han dado casos de rabdomiolisis con mioglobinuria o falla renal aguda. La infección por virus de influenza B también se ha descrito como una causa rara de miocarditis.⁶⁹

1.8 Diagnóstico

En determinadas circunstancias el diagnóstico puede hacerse clínicamente, como se recomienda durante una situación epidémica. En otras ocasiones, es importante establecer el diagnóstico rápido, como en los pacientes hospitalizados con aparición aguda de la enfermedad pulmonar grave.

1.8.1 Diagnóstico clínico

Durante una epidemia de influenza, las enfermedades respiratorias agudas febriles pueden ser diagnosticadas como influenza con un alto grado de certidumbre tan sólo por criterios clínicos; esto no puede aplicarse en los casos de influenza esporádica⁷⁰. Dentro de los síntomas que tienen mayor sensibilidad para el diagnóstico clínico de la infección por influenza durante una epidemia son fiebre y tos, con un valor predictivo positivo (VPP) de 76% y 69%, respectivamente y cuando se presentan los dos síntomas con un VPP de 79%⁷⁰.

1.8.2 Diagnóstico de laboratorio

Las herramientas diagnósticas para la detección del virus de influenza son varias, incluyendo la serología, el cultivo viral, la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR), la prueba rápida inmunocromatográfica para detección de antígenos e inmunofluorescencia.

La sensibilidad y especificidad de las pruebas pueden variar dependiendo de la cepa, sin que se conozcan al momento de la aparición de nuevas variedades. Incluso, pueden depender de factores inherentes a la prueba, como el tiempo entre el inicio de la sintomatología y la toma de la muestra, así como la técnica para este procedimiento.

1.8.2.1 Toma de muestra

Pueden tomarse muestras de vías respiratorias superiores, inferiores y de sangre. Además, dependiendo del caso podría presentarse la necesidad de tomar muestra de orina, líquido cefalorraquídeo, heces, líquido pleural o biopsias. Las muestras adecuadas son:

Vías respiratorias superiores	Hisopado faríngeo, hisopado nasal con secreciones nasales o aspirado/hisopado nasofaríngeo
Vías respiratorias inferiores	Aspirado endotraqueal o lavado bronquioalveolar
Sangre	Suero (fase aguda y fase convaleciente)
Otras	Hisopado rectal/heces, líquido cefalorraquídeo, plasma en EDTA, líquido pleural o biopsias

1.8.2.2 Momento de la toma

Muestras respiratorias. Es ideal tomar las muestras en los primeros 3 días de inicio de los síntomas. Sin embargo, si una muestra inicial es reportada como negativa, y la sospecha clínica es fuerte, se recomienda repetirla. Incluso se menciona que el virus puede ser detectado en el aspirado endotraqueal hasta la segunda o tercera semana de enfermedad.

Tejido. Se recomienda que el tejido obtenido para la realización de RT-PCR debe procesarse lo antes posible. Puede utilizarse tejido fresco o incluido en parafina, dependiendo del laboratorio que realice la prueba.

1.8.3 Métodos de detección directa

Existen varios métodos que se consideran adecuados para la detección del virus de influenza, los cuales varían en sensibilidad y especificidad.

1.8.3.1 Técnicas de rRT-PCR

Las pruebas de RT-PCR utilizan regiones conservadas, como la proteína de matriz, para la identificación de especie. La HA y NA se utilizan para la subtipificación viral. En general, las técnicas de PCR no se utilizan para la identificación de cepas, para la cual se utilizan marcadores serológicos. La sensibilidad de la rRT-PCR es de 90 y 100% cuando se compara con el cultivo celular; sin embargo, existen varios trabajos que han encontrado un mayor número de pruebas positivas utilizando esta técnica, posiblemente por su capacidad para detectar viriones no viables⁷¹⁻⁷³.

1.8.3.2 Inmunofluorescencia (IFA)

Los métodos de IFA pueden ser utilizados para identificar el virus de influenza a nivel de especie (A o B), o subtipos H específicos directamente de muestras o cultivos celulares. Estos métodos son rápidos y requieren de laboratorios menos especializados, pero son deficientes en sensibilidad y actualmente sólo se tienen disponibles para la detección hasta especie.

1.8.3.3 Pruebas rápidas

No son recomendadas por la OMS. Su uso rutinario durante un brote debe realizarse solamente si no existe otra opción. Las pruebas rápidas detectan antígenos virales (generalmente la nucleoproteína) o la actividad enzimática de la NA, a través de diferentes métodos. Puede ser que detecten sólo influenza A, influenza A o B sin identificar el tipo, o influenza A y B identificando el tipo específico. Su sensibilidad es de 40 al 80%, siendo generalmente más alta en niños que en adultos y durante las etapas iniciales de la enfermedad. Su valor predictivo se correlaciona fuertemente con la prevalencia de la enfermedad en la comunidad, tanto como el diagnóstico clínico sin una prueba de laboratorio. Cuando la prevalencia es baja, el valor predictivo positivo baja; por consiguiente, los resultados positivos tienen que confirmarse con cultivo o RT-PCR. Cuando la prevalencia es alta, el valor predictivo negativo es bajo, por lo que deben confirmarse los resultados negativos con RT-PCR o cultivo. Asimismo, el valor predictivo para el diagnóstico incrementa cuando los síntomas del paciente sugieren fuertemente influenza. Todos estos valores se conocen para pruebas que detectan las cepas circulantes, pero no es posible determinarlos para cepas emergentes, incluyendo cepas epidémicas⁷⁴.

1.8.3.4 Serología

Las pruebas serológicas pueden utilizarse para el diagnóstico retrospectivo de la infección, pero rara vez son útiles para el manejo del paciente y no están disponibles de manera generalizada.⁷⁵

Se obtiene suero en la fase aguda, dentro de la primera semana posterior al inicio de síntomas, y suero en la fase convaleciente, entre 2 y 3 semanas después. Los métodos utilizados más frecuentemente son la fijación del complemento (FC), inhibición de la hemaglutinación (IHA) y los estudios inmunoenzimáticos (IEE). Otras técnicas (neutralización, microneutralización, hemólisis radial simple, inmunodifusión radial y *Western blot*) también se han reportado⁷⁶. Dado que la mayoría de las personas se exponen de forma repetida a diferentes cepas del virus de influenza, un incremento de cuatro veces los títulos entre el suero de la fase aguda y el de la fase convaleciente es necesario para confirmar la infección por influenza.

1.8.3.5 Aislamiento viral en cultivo celular

El aislamiento del virus se considera el estándar de oro de las pruebas para influenza. Las muestras para cultivo deben de recolectarse idealmente en los primeros 3 días de inicio de la enfermedad. El tiempo que requiere el método estándar para tener resultados varía entre 2 y 14 días, en tanto que el tiempo de detección por cultivo rápido, varía entre 5 (> 90% de las muestras positivas) y 7 días (100% de muestras positivas)⁷⁷.

El cultivo viral es un método importante a nivel de investigación, tanto básica para obtener material para los estudios de biología molecular del virus, como epidemiológica, ya que para la caracterización de la cepa se requiere del aislamiento obtenido a partir de cultivos celulares.

1.9 Bioseguridad

Las recomendaciones para los períodos interpandémicos y pandémicos son:

- Para el diagnóstico, investigación y actividades de producción que requieran del uso de virus de influenza humana contemporáneos (H1/H3/B), cepas de influenza aviar de baja patogenicidad (H1-4, H6, H8-16), cepas porcinas y ovinas, deben utilizarse instalaciones, procedimientos y prácticas con nivel de bioseguridad 2 (BSL 2).
- Para el manejo de virus de alta patogenicidad se requieren precauciones adicionales, por el potencial de infección en quienes lo manipulan, por lo que se recomiendan prácticas y procedimientos de bioseguridad nivel 3 (BSL 3).

1.10 Tratamiento

1.10.1 Fármacos disponibles

Existen dos grupos de antivirales para el tratamiento y profilaxis contra influenza: los inhibidores del canal de iones M2, denominados adamantanos (amantadina y rimantadina) y los inhibidores de neuraminidasa (oseltamivir y zanamivir). Se deben seguir las recomendaciones de cada localidad en cuanto a la sensibilidad de las cepas en circulación.

1.10.1.1 Adamantanos

La **amantadina** y la **rimantadina** (para administración VO), son fármacos que no se recomiendan de rutina para el tratamiento de la infección por influenza debido a la alta incidencia de resistencia, reportándose en más del 90% en las cepas estacionales H3N2. No se deben usar para la infección por virus de influenza tipo B, ya que no son útiles. La dosis de la amantadina y la rimantadina es de 100 mg dos veces al día por 5 días. Puede haber efectos adversos a nivel del sistema nervioso central (cefalea, mareo o fatiga) como gastrointestinales (náusea, vómito o diarrea).

1.10.1.2 Inhibidores de Neuraminidasa

Oseltamivir (para administración VO) está aprobado para su uso como tratamiento y prevención de la infección por influenza en adultos y niños mayores de un año ⁷⁸. Está aprobado tanto para la infección por el virus A como el B. El oseltamivir se ha estudiado en pacientes infectados por influenza estacional, generalmente en estado no crítico. Se han reportado pocos efectos adversos, siendo el más frecuente, diarrea. Debe ajustarse al peso, edad y a la función renal. La dosis en un adulto es de 75 mg dos veces un día durante 5 días.

Zanamivir (para administración inhalada por boca) está aprobado para el tratamiento y profilaxis de influenza en mayores de 5 años, tanto para la infección por virus A como B. Dentro de los efectos adversos que se han reportado están la cefalea, odinofagia y tos. No se recomienda en aquellos pacientes con enfermedad neurológica, broncoespasmo o enfermedad sistémica grave, ya que no se absorbe adecuadamente en el parénquima pulmonar.

La dosis en el adulto es de dos inhalaciones de 10 mg dos veces al día por 5 días.

1.10.2 Resistencia a antivirales

Resistencia a adamantanos: para las cepas del virus de influenza en general, un 30% de los pacientes pueden excretar cepas resistentes a amantadina tras 2-5 días de tratamiento. Esta puede aparecer rápidamente ya que una simple mutación puntual confiere resistencia tanto a amantadina como a rimantadina, dicha mutación es generalmente la S13N que se encuentra en la porción génica de la proteína M2. La evaluación para conocer la resistencia a adamantanos se realiza por medio de análisis por pirosecuenciación ⁷⁹.

Resistencia a oseltamivir: hasta hace poco la resistencia a oseltamivir había permanecido relativamente baja. Durante la temporada 2007-2008 el 10.9% de los virus H1N1 estudiados en E.U.A. fueron resistentes a oseltamivir. Para diciembre de 2008, el 98% de 50 aislados de H1N1 de la temporada 2008-2009 fueron resistentes (aunque, permanecieron sensibles a zanamivir, amantadina y rimantadina). La resistencia a oseltamivir parece ser un fenómeno en evolución.

Resistencia a zanamivir: No se ha detectado resistencia en pacientes que han recibido previamente este fármaco para el tratamiento de influenza A; sin embargo se ha reportado un aislamiento de influenza B con sensibilidad reducida en un niño de 18 meses, inmunocomprometido (transplante de médula ósea) a quien se le había tratado por 12 días⁸⁰. La resistencia a inhibidores de neuraminidasa se identifica por medio de análisis de quimioluminiscencia ⁷⁹.

1.10.3 Patrón de resistencia del Virus de Influenza A H1N1 O-P.

En un análisis realizado a 13 muestras de pacientes que contrajeron la infección por el virus de influenza A H1N1 O-P, a finales de abril en E.U.A., se observó que todas las muestras virales tuvieron resistencia a rimantadina y amantadina, pero mostraron sensibilidad a oseltamivir y zanamivir. Las 13 muestras contenían la mutación S13N. Una secuencia parcial deducida de los pirogramas de la proteína M2 reveló cambios característicos del gen M. Las 13 muestras observaron valores característicos de zanamivir y oseltamivir para inhibir el 50% de la NA, lo cual confiere sensibilidad a los inhibidores de ésta⁷⁹. Sin embargo, recientemente han surgido reportes esporádicos de resistencia a dichos inhibidores⁸¹.

1.10.4 Otros antivirales en estudio

Hasta el momento no existen formas parenterales para el tratamiento del virus de influenza, lo que sería ideal para pacientes en estado crítico. Existen dos estudios clínicos con zanamivir y peramivir con este propósito.⁸² Otros agentes en estudio son el T-705, un inhibidor de polimerasa, y el DAS181, un inhibidor de adherencia⁸². La inmunización pasiva con anticuerpos humanos monoclonales específicos se ha considerado como un posible tratamiento – como sucedió en la pandemia de 1918 –, pero aun se tienen datos limitados sobre su uso⁸³.

1.11 Profilaxis

En relación a la profilaxis con antivirales, la OMS recomienda, si existen inhibidores de neuraminidasa disponibles, utilizarlos en grupos con alta exposición, incluyendo mujeres embarazadas. Debe iniciarse oseltamivir, el cual se debe continuar 7 a 10 días después de la última exposición; el zanamivir puede usarse como alternativa. En grupos de exposición moderada, incluyendo mujeres embarazadas, el oseltamivir puede utilizarse como profilaxis por 7 a 10 días después de la última exposición.

En grupos de exposición baja, es posible que la quimioprofilaxis con oseltamivir o zanamivir no deba iniciarse. Las mujeres embarazadas en este grupo no deben recibir profilaxis.

Si no se cuenta con inhibidores de la neuraminidasa: en grupos con exposición de alto riesgo, debe administrarse algún adamantano, sobre todo en los países en donde se conoce que el virus puede ser susceptible. En grupos de exposición de bajo riesgo, los adamantanos no deben usarse como profilaxis. En mujeres embarazadas no deben usarse adamantanos como profilaxis. En los ancianos, en personas con alteración en la función renal, individuos bajo tratamiento neuropsiquiátrico y con alteraciones neuropsiquiátricas no debe utilizarse amantadina.

1.12 Prevención

Vacunación: Fabricada en embriones de pollo o por medio de líneas celulares. La vacuna trivalente (VT) está formada por virus inactivados o purificados de antígenos de superficie. Debido a los frecuentes cambios antigénicos de virus, el contenido antigénico de las vacunas de virus de influenza se cambia anualmente para abarcar las cepas del virus de influenza A y B en circulación. La eficacia de la vacuna está directamente relacionada con el grado de concordancia entre las cepas de virus incluidas en la vacuna y las que circulan en la comunidad. Cuando se producen cambios periódicos importantes en la estructura antigénica del virus, la vacuna puede contener antígenos de los virus previos y por lo tanto no tener eficacia.

Se estima que la eficacia de la vacuna es de un 70% a 90% para prevenir la infección en adultos sanos menores de 65 años de edad; sin embargo la eficacia parece ser menor en las personas mayores ⁸⁴.

Específicamente, la inmunización anual es recomendada para todas las personas de 65 años de edad o mayores, los residentes de asilos, las personas con trastornos cardiovasculares o pulmonares crónicos, incluidos los niños con asma, y las personas que requieren seguimiento médico regular o aquellos hospitalizados en el año anterior con alguna enfermedad metabólica crónica, disfunción renal, hemoglobinopatías o inmunosupresión y los niños en terapia con aspirina a largo plazo. Las mujeres embarazadas que estarán en el segundo o tercer trimestre durante la temporada de influenza (generalmente diciembre a marzo) deben ser vacunadas.

También se recomienda para los médicos y demás personal al cuidado de personas de alto riesgo. También se recomienda la vacunación en los niños entre los 6 y 23 meses de edad.

Las reacciones adversas son infrecuentes y éstas se presentan en 3 a 5% de la población, manifestadas por dolor en el sitio de aplicación, febrícula o fiebre de bajo grado. Se menciona que hay riesgo de presentar síndrome de Guillain-Barré u otras enfermedades autoinmunes, sin embargo éste se ha identificado uno por millón de dosis / año.

Medidas de contacto e higiene. Se recomienda que cuando un paciente ha sido diagnosticado con la infección por influenza se lleve a cabo su aislamiento en un área de presión negativa, con la colocación de precauciones de contacto y de gotas, para disminuir la transmisibilidad.

Dada la alta contagiosidad de la infección se debe recalcar el adecuado manejo de secreciones, así como los síntomas que expongan gotas en la vía aérea. Se debe recomendar un adecuado aseo de manos, con alcohol gel o con jabón, tan frecuente como sea necesario.

En las situaciones de epidemias deben aplicarse lineamientos que existen para estos casos, los cuales se enfocan a diversas situaciones como laborales, recreativas u hospitalarias.

JUSTIFICACIÓN

A finales de marzo y principios de abril se reportó un incremento en el número de casos de infecciones de vías respiratorias superiores en algunas zonas del país y se identificaron casos de neumonía grave en personas jóvenes. En la Ciudad de México, este fenómeno también se presentó desde la primera mitad de abril. Posteriormente, se determinó que el agente causal en la mayoría de los casos era una nueva cepa del virus de Influenza A, subtipo H1N1 O-P.

En los hospitales de la Ciudad de México se incrementó el número de pacientes que acudieron a valoración hospitalaria por sintomatología respiratoria, cumpliendo muchos de ellos los criterios de enfermedad similar a influenza. Algunos pertenecían al grupo de trabajadores de la salud. Varios de estos pacientes desarrollaron una neumonía grave, falleciendo por esta causa algunos de ellos.

Ante esta contingencia, se realizó un trabajo conjunto entre el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” y el Hospital General “Manuel Gea González”, con la finalidad de describir las características epidemiológicas y clínicas, así como los factores de riesgo para hospitalización y muerte de la infección ocasionada por la nueva cepa de influenza A.

OBJETIVOS

I.- Describir las manifestaciones clínicas y epidemiológicas de la infección por el virus de Influenza A H1N1 O-P.

II.- Describir el patrón de excreción viral de la cepa de Influenza A H1N1 O-P.

III.- Describir las alteraciones radiológicas en pulmón.

IV.- Describir los hallazgos histopatológicos en relación con la infección.

V.- Determinar la presencia de otros patógenos coinfectantes en las vías respiratorias.

VI.- Identificar los factores de riesgo para hospitalización y muerte asociados a la infección por el virus de Influenza A H1N1 O-P.

HIPÓTESIS

I.- Las características clínicas de los pacientes infectados por el virus de influenza A H1N1 O-P son diferentes entre quienes requieren hospitalización y quienes solo requieren tratamiento ambulatorio.

II.- Existen características en los pacientes con infección por el virus de influenza A H1N1 O-P que podrían predecir un mayor riesgo de mortalidad.

III.- No hay diferencias genómicas entre las cepas virales que infectaron a los pacientes.

METODOLOGÍA

Diseño del estudio

Se realizó un estudio observacional, prospectivo y prolectivo.

Población del estudio

Personas que acudieron a consulta al Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” (INCMNSZ) y al Hospital General “Manuel Gea González” (HMGG).

Criterios de inclusión

Personas que acudieron a valoración por síntomas respiratorios y que cumplieron criterios de enfermedad similar a influenza atendidos en el Hospital General “Manuel Gea González” y el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”, durante el período del 13 de abril al 31 de mayo de 2009, y que tuvieran un resultado positivo por rRT-PCR para infección por el virus de Influenza A H1N1 O-P.

Criterios de exclusión

Pacientes menores de 13 años o con resultado de rRT-PCR negativo para el virus de Influenza A H1N1 O-P.

Criterios de eliminación

Pacientes con rRT-PCR positiva para el virus de Influenza A H1N1 O-P pero que no tuvieron datos clínicos o epidemiológicos que evaluar

Métodos

Sitios de estudio:

El Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” es un hospital de tercer nivel de atención para pacientes adultos, en el que se lleva a cabo educación médica e investigación. Este hospital cuenta con 163 camas censables.

El Hospital General “Manuel Gea González” es un hospital de segundo nivel de atención para pacientes pediátricos y adultos, y también se realiza investigación y educación médica. Dicho hospital cuenta con 212 camas censables.

Ambos hospitales se encuentran situados en el sur de la Ciudad de México, en la denominada Zona de Hospitales, en la Delegación Tlalpan.

Instrumento de evaluación

Se utilizó un cuestionario desarrollado para este evento por personal médico del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”, el cual se aplicó al momento de la evaluación respiratoria. Contiene datos demográficos, información clínica, paraclínica y de evolución. (Anexo 2). Se categorizaron algunas variables utilizando parámetros establecidos que están relacionados a gravedad (Índice de Charlson, tensión arterial media < 65 torr y taquipnea >30).

Filtros, evaluación y tratamiento.

Se colocaron varias estaciones para realizar filtros de identificación (*triage*) de pacientes, tanto en las entradas principales como en las que tenían mayor afluencia (toma de muestras y consulta externa). Después de realizar higiene de manos con gel antiséptico, los pacientes fueron evaluados en búsqueda de síntomas sistémicos o respiratorios. Los pacientes fueron derivados a un área especial del hospital para la evaluación respiratoria. En dichos sitios se identificaron aquellos que cumplieron los criterios de enfermedad similar a influenza (ESI). Estos lugares funcionaban para la toma de decisión en cuanto al requerimiento de hospitalización.

Los pacientes que necesitaban una evaluación más profunda se enviaron a un área especial del servicio de urgencias, en la cual se seguían medidas de aislamiento de contacto y de gotas. En este lugar se obtenían estudios paraclínicos y se mantenía en observación a los pacientes.

Los pacientes que requirieron hospitalización fueron atendidos en zonas especiales de cada hospital, asignadas exclusivamente a los pacientes con diagnóstico de influenza. En función de su estado clínico, algunos fueron derivados a un área de la unidad de cuidados intensivos.

Todos los pacientes que se diagnosticaron con ESI recibieron tratamiento antiviral con Oseltamivir (Tamiflu[®], Roche SA de CV), en solución por vía oral – 5 ml/75 mg de oseltamivir, preparado por Birmex, Laboratorio de Biológicos y Reactivos de México SA de CV – a 150 mg/día, dividido en dos dosis, ajustado para función renal cuando fue necesario, por 5 días. El médico tratante podía aumentar la dosis o ampliar el tiempo de acuerdo a su criterio clínico.

Llamadas telefónicas

Se obtuvo el número telefónico al momento de aplicación del cuestionario con la finalidad de informar el resultado del estudio de rRT-PCR y obtener datos clínicos en relación a la evolución del paciente, así como hacer una llamada a los 30 días de la visita para evaluar supervivencia.

Muestras clínicas

Hisopados

A los pacientes que cumplieron el criterio ESI se les realizó un hisopado nasofaríngeo (Anexo 3). Si en pacientes graves la sospecha de infección era alta se llevó a cabo un segundo hisopado nasofaríngeo o lavado bronquioalveolar. En aquellos a los que se realizó biopsia o necropsia, este material se procesó para rRT-PCR. La muestra fue transportada en un medio para transporte virológico.

Para la evaluación de la excreción viral se eligieron al azar 9 pacientes. En ellos, si la rRT-PCR del hisopado faríngeo resultaba positiva, se repetía esta muestra cada 24 a 48 horas, así como, muestra de orina y heces hasta que las muestras fueran negativas.

En ambos sitios de estudio, la toma de muestras se realizó por personal médico. Las muestras fueron concentradas en el Laboratorio de Biología Molecular, del Departamento de Infectología del INCMNSZ, manteniendo una red fría para conservar las muestras entre 4-8°C hasta su procesamiento. Sin embargo, cabe mencionar que durante 3 días las muestras del HGMGG se procesaron en el Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (INDRE), siguiendo el mismo protocolo para su procesamiento, de estas muestras sólo se obtuvo el resultado cualitativo.

A las muestras que salieron como negativas para Influenza A H1N1 O-P se les realizó PCR anidado para otros virus respiratorios (Influenza B; Parainfluenza 1,2,3 y 4; y Virus sincicial respiratorio).

Estudios Microbiológicos

En los pacientes en que se sospechaba una infección bacteriana o fúngica sobreagregada, se realizaron cultivo de expectoración, aspirado endotraqueal o lavado bronquioalveolar, hemocultivo o urocultivo, de acuerdo al criterio del médico tratante y evolución del paciente.

Estudios histopatológicos

Si el paciente requería de toma de biopsia el estudio histopatológico se realizaba en los Departamentos de Patología del INCMNSZ o del HGMGG. Si el paciente fallecía, se solicitaba autorización a los familiares para realizar autopsia. Se obtuvieron los resultados por escrito de dichos servicios y se agregaron a la base de datos.

Métodos de laboratorio

Las muestras de los diferentes sitios corporales (nasofaringe, aspirado endotraqueal, orina, heces o biopsias) se manejaron de acuerdo a los lineamientos establecidos por CDC en E.U.A. (Anexo 4)

Carga viral

Para la determinación de la carga viral se llevo a cabo la cuantificación absoluta de copias de ARN viral del segmento 7 de la proteína M del virus de influenza A H1N1 O-P por técnica de rRT-PCR. Por medio del ensayo de cuantificación absoluta del termociclador Applied Biosystem 7500 se determinó la interpolación de una curva estándar que sirvió como base para la medición de la carga viral en las muestras procesadas.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se llevó a cabo un análisis descriptivo de los datos utilizando medidas de tendencia central y de dispersión (media \pm desviación estándar; mediana y valores mínimo-máximo) para las variables de tipo cuantitativo (continuas o dimensionales) donde evaluó inicialmente la normalidad de la distribución utilizando los indicadores de sesgo y kurtosis. En el caso de las variables, se utilizaron frecuencias absolutas y relativas (porcentajes).

Para la comparación entre grupos, principalmente se utilizaron estadísticos para distribuciones no paramétricas (U de Mann-Whitney, Z de Kolmogorov-Smirnof), y la prueba de Chi cuadrada o la prueba exacta de Fisher, según fuera adecuado. Para medir la magnitud de la asociación se calcularon las razones de momios y su intervalo de confianza al 95% utilizando un modelo de regresión logística inicialmente para cada variable (modelo de riesgos univariado) para los eventos de interés de este estudio: hospitalización y muerte. Con la finalidad de ajustar el efecto de una variable explicativa (independiente) sobre las demás variables y el evento de interés (variable dependiente hospitalización o muerte) se llevó a cabo un análisis multivariado de los datos con sus intervalos de confianza correspondientes. Un valor $p < 0.05$ fue considerado como significativo.

Debido a que se observó una gran colinearidad entre las diferentes variables independientes para explicar el evento a medir, posterior a la estimación de los riesgos por el modelo multivariado, se utilizó el modelo de componentes principales con el propósito de reunir las variables que pueden ser parte o estar muy relacionadas a una variable explicativa y con esto evitar la colinearidad entre las mismas.

Por último, se utilizó el análisis de sobrevida de Kaplan-Meier para evaluar la relación entre el momento en que el paciente acudió al hospital para recibir atención médica y tratamiento antiviral específico y su probabilidad de sobrevivir a la enfermedad. Así mismo para medir la relación entre la carga viral y el número días de evolución de la enfermedad se estimó la línea de regresión utilizando un modelo de regresión lineal simple entre el día y el logaritmo base 10 de la carga viral.

RESULTADOS

Evaluación inicial y filtros

En los filtros ubicados en los diferentes sitios hospitalarios, se detectaron 2080 pacientes con datos de infección respiratoria aguda, los cuales fueron evaluados en para determinar la presencia de ESI, la cual se identificó en 1121, realizándole hisopado nasofaríngeo a esa cantidad de personas. Tuvieron una prueba positiva para el virus de Influenza A H1N1 O-P 225 pacientes, de los cuales se excluyeron 17 por no contar con datos clínicos y epidemiológicos. (Figura 1)

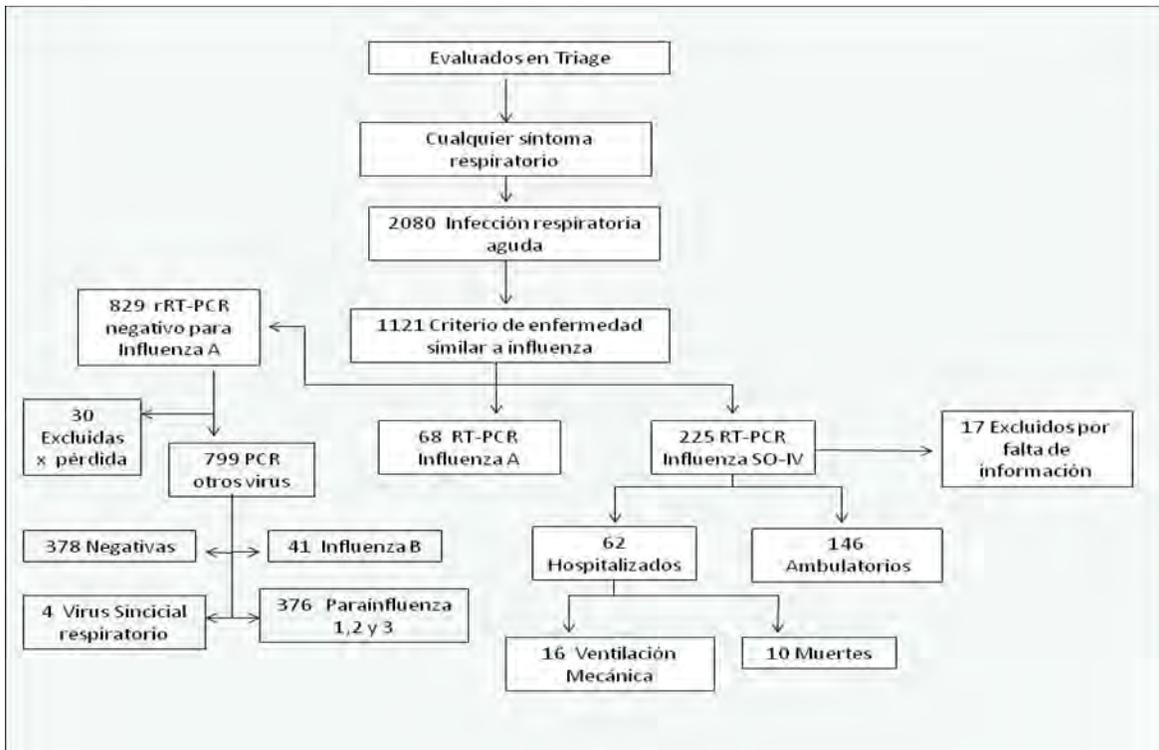


Figura 1. Población del estudio.

Se encontraron 829 muestras negativas por rRT-PCR para el virus de Influenza A H1N1 O-P, de las cuales 799 fueron procesadas por PCR anidado en búsqueda de otros virus. (Tabla 1)

Tabla 1. Aislamientos de virus en las muestras negativas para influenza A H1N1 O-P.

Tipo de Virus	Número de aislamientos
Virus de Influenza B	41
Virus Parainfluenza (376)	
Tipo I	114
Tipo II	136
Tipo III	5
Tipo I y II	119
Tipo I y III	2
Virus Sincicial Respiratorio	4

Hubo 20 muestras con virus de Influenza B, como mono infección; sin embargo 21 muestras con este mismo aislamiento viral presentaron coinfección con otros virus. También hubo coinfección entre el virus Sincicial Respiratorio y el virus Parainfluenza, es decir, el virus Sincicial Respiratorio siempre estuvo asociado a coinfección (Tabla 2)

Tabla 2. Distribución de coinfección viral en las muestras negativas para Influenza A H1N1 O-P

Tipo de coinfección viral	Número de aislamientos
Influenza B + Parainfluenza 1	6
Influenza B + Parainfluenza 2	2
Influenza B + Parainfluenza 1 y 2	12
Influenza B + Parainfluenza 2 y 3	1
Virus Sincicial Respiratorio + Parainfluenza 1	2
Virus Sincicial Respiratorio + Parainfluenza 2	2

Durante el periodo de estudio, el número de consultas por síntomas respiratorios se incrementó de forma importante en los servicios de urgencias, como se muestra en la figura 2. Como se puede observar, es posible que las acciones tomadas por la Secretaria de Salud (SSA) durante dicho período hayan contribuido en la disminución del número de estos casos en los días posteriores a éstas.

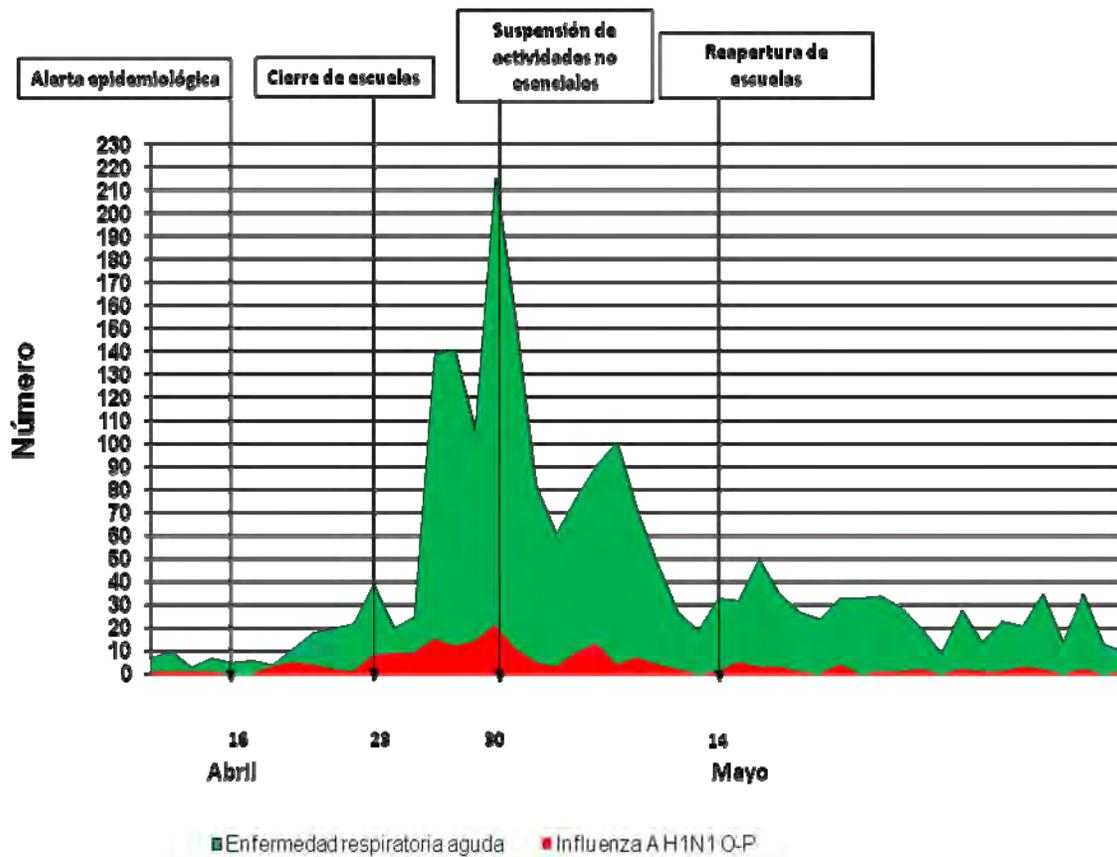


Figura 2. Casos atendidos por día de enfermedad respiratoria aguda e influenza A H1N1 en ambos hospitales.

Datos demográficos generales entre los hospitales

Hubo algunas diferencias entre la población atendida en el HGMGG y el INCMNSZ. Al HGMGG acudieron pacientes más jóvenes (mediana de edad 30.5 años). En el INCMNSZ se atendió una mayor proporción de paciente con comorbilidades (55 vs 38.9%), tales como insuficiencia renal crónica (4 vs 0%), enfermedades reumatológicas (15 vs 0%) y pacientes que tenían uso de esteroides (12 vs 0%). En el grupo de pacientes del INCMNSZ una mayor proporción había recibido vacuna de influenza estacional (35.1 vs 8.3%).

La mediana de tiempo entre el inicio de síntomas y la atención en el hospital fue menor en el INCMNSZ, 2 vs 2 días ($p = 0.034$). Los pacientes que acudieron al HGMGG presentaron con más frecuencia fiebre (84.3 vs 73%), cefalea 64 (84.3 vs 65%), mialgias (87 vs 52%) y alteraciones hemodinámicas, como mayor frecuencia cardíaca (104 vs 99x') y menor tensión arterial media (74 vs 99 torr). La sintomatología respiratoria fue también más frecuente: disnea (41.7 vs 28%), rinorrea (82.4 vs 57%), mayor frecuencia respiratoria (22 vs 20x'), menor saturación de oxígeno, y por ende, menor relación PaO_2/FiO_2 (medianas 92% y 190.5 mmHg, respectivamente). El resto de las variables no presentó diferencias significativas.

Hospitalización

El número de pacientes que requirió hospitalización fue de 62 (29.8%). Dentro de las características demográficas, se observó que los pacientes hospitalizados tuvieron mayor índice de masa corporal (mediana 30.2 kg/m²), comorbilidades (79%) o antecedente de tabaquismo (37.1%). No hubo diferencias en relación con la edad y el género. (Tabla 3)

Los pacientes hospitalizados tuvieron un mayor tiempo de evolución del inicio de síntomas (mediana 3 vs 2). Dentro de los síntomas al ingreso se observó diferencia con los pacientes ambulatorios en la disnea (56.5 vs 26%), mayor frecuencia respiratoria (mediana de 24 vs 20), taquipnea > 30x' (69 vs 29%), menor saturación de oxígeno (mediana 89 vs 95%), menor relación PaO₂/FiO₂, (mediana 212 vs 295 mmHg) y una tensión arterial media menor a 65 torr (25 vs 0%). Los pacientes ambulatorios presentaron más odinofagia (59.6 vs 59.6%). No hubo diferencias significativas en otros parámetros del laboratorio. (Tabla 3)

Tabla 3. Características de pacientes ambulatorios y hospitalizados.

	Ambulatorios n=146 (70.2%)	Hospitalizados n=62 (29.8%)	p	RM (IC 95%)
Características demográficas				
Femenino (%)	79 (54.1)	35 (56.5)	0.75	0.91 (0.5-1.66)
Edad mediana (min-max)	31.5 (13-98)	38 (14-83)	0.1	
Índice Masa Corporal	25.4 (20.4-35.7)	30.2 (17.8-73)	0.003	
Comorbilidad	48 (32.9)	49 (79)	<0.001	7.7 (3.8-15.5)
Í. de Charlson de 1	29 ()	16 ()	0.44	1.40 (0.69-2.82)
Tabaquismo	24 (16.4)	23 (37.1)	0.001	2.99 (1.53-5.9)
Síntomas Generales				
Tiempo en acudir a valoración médica, mediana	2 (0-14)	3 (0-18)	<0.001	
Fiebre (%)	110 (75.3)	54 (87.1)	0.58	2.2 (0.96-5-07)
Cefalea	113 (77.4)	43 (69.4)	0.22	0.66 (0.34-1.29)
Malestar general	87 (59.6)	38 (71.7)	0.12	1.72 (0.9-3.4)
Mialgias	101 (69.2)	45 (72.6)	0.62	1.18 (0.61-2.28)
Diarrea	9 (6.1)	9 (14.5)	0.09	2.59 (0.97-6.87)
Vómito	3 (2.0)	5 (8.0)	0.09	4.18 (0.97-18.1)
Tensión Arterial Media (mediana)	86.7 (70-126.7)	67.3 (50.7-146.7)	<0.001	
Tensión Arterial Media menor a 65 mmHg	0	25 (40.3)	<0.001	199.2 (11.86-3348.6)
Frecuencia cardiaca	99 (53-153)	110 (60-170)	0.11	
Síntomas respiratorios y evaluación respiratoria				
Disnea (%)	38 (26)	35 (56.5)	< 0.001	3.68 (1.97-6.87)
Tos	102 (69.9)	49 (79)	0.17	1.63 (0.8-3-3)
Rinorrea	106 (72.6)	40 (64.5)	0.24	0.69 (0.36-1.3)
Odinofagia	87 (59.6)	15 (24.2)	< 0.001	0.22 (0.11-0.42)
Frecuencia Respiratoria (mediana)	20 (14-40)	24 (12-45)	<0.001	
Taquipnea >30	43 (29.4)	43 (69.3)	>0.001	5.42 (2.84-10.3)
Saturación de oxígeno	95 (80-99)	89 (63-98)	<0.001	
PaO ₂ /FiO ₂ mmHg	295 (261-357)	212 (43-451)	0.01	

Para el análisis multivariado del desenlace de hospitalización, se construyó un modelo de regresión logística con aquellas variables que tuvieron una $p < 0.1$. De este modelo las siguientes variables mantuvieron una diferencia significativa estadísticamente: obesidad ($p = 0.00$, RM 10.2 [3.05-34.0]), índice de Charlson de 1 ($p = 0.034$, RM 2.12 [1.06-4.2]) y taquipnea >30 ($p = 0.001$, RM 11.11 [2.54-48.5]); la presencia de odinofagia se comportó como un marcador de protección ante hospitalización ($p = 0.000$, RM 0.13 [0.47-0.36]). (Tabla 4)

Tabla 4. Variables con diferencia significativa en el modelo multivariado para hospitalización (regresión logística).

Análisis Multivariado				
	Ambulatorios n=146 (70.2%)	Hospitalizados n=62 (29.8%)	RM (IC95%)	p
Edad 30-49 años	55 (37.6)	32 (51.6)	2.83 (0.97-8.29)	0.057
Edad > 50 años	26 (17.8)	12 (19.3)	1.2 (0.35-4.3)	0.73
Obesidad	10 (6.8)	26 (41.9)	10.2 (3.05-34.04)	0.000
Índice de Charlson	29 (19.8)	16 (25.8)	2.12 (1.06-4.2)	0.034
>3 Días en acudir a valoración	30 (20.5)	29 (46.7)	2.36 (0.93-5.99)	0.07
Odinofagia	87 (59.8)	15 (24.1)	0.13 (0.04-0.36)	0.000
Taquipnea >30	43 (29.4)	43 (69.3)	11.11 (2.54-48.5)	0.001

Gravedad en los pacientes hospitalizados

Se obtuvo el índice SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) en 38 (61.2%) pacientes hospitalizados. Aquellos que fallecieron presentaron una mediana mayor, 7 vs 3, alcanzando significancia estadística; estos pacientes tuvieron una mayor proporción de falla respiratoria, y requirieron con más frecuencia apoyo mecánico ventilatorio 88.9%. El utilizar ventilación no invasiva fue un factor protector para muerte (60 vs 11%), no así la ventilación invasiva (17.6 vs 88.9). (Tabla 5)

Tabla 5. Datos relacionados a gravedad

	Hospitalizados vivos n=52 (25%)	Muertos n=10 (4.8%)	P	RM (IC95%)
Hallazgos hospitalización				
Días en hospital (n=57)	4 (1-54)	8 (1-13)	0.71	
Días de Ventilación	13.5 (2-31)	4 (1-13)	0.094	
Días en UCI(n=26)	3.5 (1-35)	5.5 (1-13)	0.74	
Índice SOFA	3 (1-6)	7 (4-11)	0.026	
Ventilación no invasiva (n=60)	31/51 (60.7)	1/9 (11.1)	0.017	0.08 (0.009-0.69)
Ventilación invasiva n=60	9/51 (17.6)	8/9 (88.9)	<0.001	37.3 (4.13-336.93)

Mortalidad

Fallecieron 10 pacientes (4.8% de la población total y 16.1% de los hospitalizados). Sus características demográficas se describen en la tabla 4. Se observó que el 70% fueron del género femenino, con una mediana de edad de 38.5 años (21-56); la mediana del índice de masa corporal fue de 33 kg/m² y todos tenían el antecedente de una comorbilidad previa. En el análisis univariado ninguna comparación en cuanto a demografía alcanzó diferencia estadísticamente significativa. (Tabla 6)

Se realizó un análisis con toda la población (incluyendo pacientes hospitalizados y ambulatorios) para determinar factores de riesgo de mortalidad. Se observó que el índice de masa corporal fue mayor en los pacientes muertos, con una mediana de 33 kg/m² (17.7-73) y el 100% de ellos tenía una comorbilidad, a diferencia de 43.9 % de los vivos. (Tabla 6)

Los pacientes que murieron tardaron una mediana de 4.5 días en acudir a valoración médica; a diferencia de los pacientes hospitalizados que sobrevivieron, la población general acudió mucho más tempranamente, con una mediana de 1 día entre el inicio de síntomas y la atención médica. Los pacientes que vivieron tuvieron más cefalea (77.3 vs 30%). Los pacientes que murieron tuvieron una tensión arterial media <65 torr (50 vs 10.1%) y presentaron más vómito (30 vs 2.5). (Tabla 6)

Dentro de los síntomas respiratorios, los pacientes que murieron tuvieron más disnea (80 vs 32.8%), y la mediana de saturación de oxígeno y el índice PaO₂ fue menor (75 vs 93 y 128 vs 293, respectivamente). Los pacientes ambulatorios presentaron mayor rinorrea que los graves (72.7 vs 20%). (Tabla 6)

Por último, los pacientes que murieron requirieron una mayor mediana en el número de días hospitalizados que los pacientes vivos (8 vs 0%).

Tabla 6. Características del total de la población.

	Vivos n=198 (95.2%)	Muertos n= 10 (4.8%)	p	RM (IC95%)
Características demográficas				
Género femenino (%)	107 (54)	7 (70)	0.52	0.5 (0.13-2.01)
Edad mediana (min-max)	34 (13-98)	38.5 (21-56)	0.38	
Índice de masa corporal	27 (19.9-42.9)	33 (17.7-73)	0.01	
Comorbilidad	87 (43.9)	10 (100)	0.001	1.12 (1.04-1.19)
Índice de Charlson de 1	41 (24.7)	4 (40)	0.32	2.47 (0.67-9.17)
Vacuna Influenza 2008	40/180 (22.2)	1/10 (10)	0.7	0.39 (0.05-3.16)
Síntomas generales				
Tiempo en acudir a valoración médica, mediana (189/9)	1 (0-18)	4.5 (1-8)	0.04	
Fiebre (%)	157 (79.3)	7 (70)	0.44	0.61 (0.15-2.46)
Cefalea	153 (77.3)	3 (30)	0.003	0.13 (0.03-0.58)
Malestar general	122 (63.9)	3/8 (37.5)	0.15	0.34 (0.08-1.46)
Mialgias	138 (69.7)	8 (80)	0.73	1.74 (0.36-8.43)
Diarrea	16 (8)	2 (20)	0.46	2.84 (0.56-14.54)
Vómito	5 (2.5)	3 (30)	<0.001	16.54 (3.28-83.4)
Tensión Arterial Media (mediana)	83.3 (50.7-146.7)	63.3 (50.7-100)	0.03	
Tensión Arterial Media <65 mmHg	20 (10.1)	5 (50)	0.001	8.9 (2.37-33.42)
Frecuencia cardiaca	100 (53-158)	115 (70-170)	0.12	

Continúa tabla 6

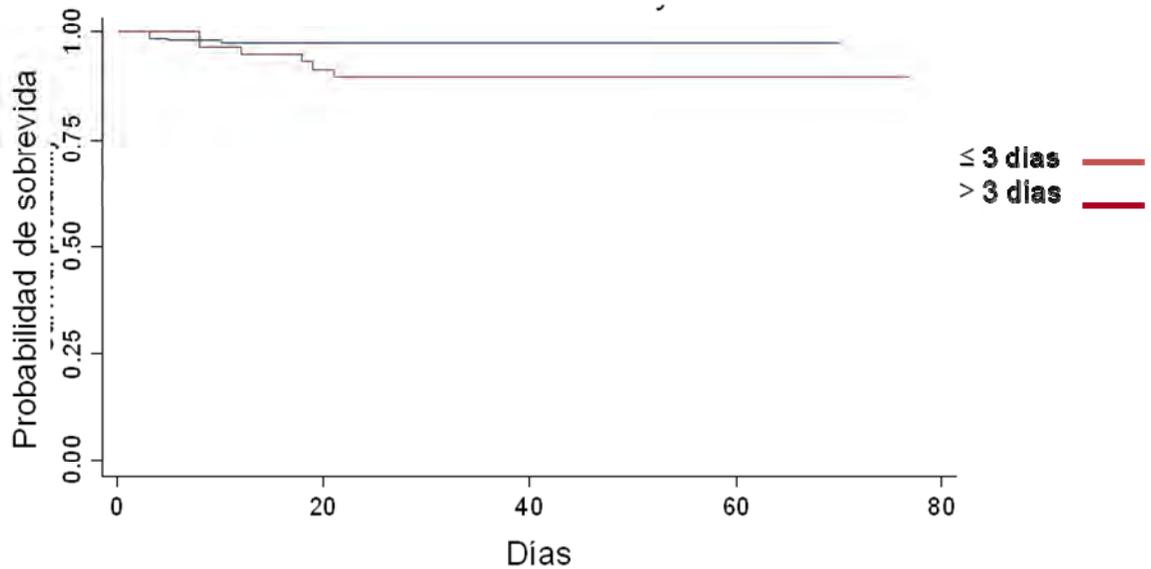
Síntomas respiratorios				
Disnea (%)	65 (32.8)	8 (80)	0.004	8.19 (1.7-39.6)
Tos	144 (72.7)	7 (70)	1	0.88 (0.22-3.51)
Rinorrea	144 (72.7)	2 (20)	0.001	0.09 (0.02-0.46)
Odinofagia	100 (50.5)	2 (20)	0.10	0.25 (0.05-1.18)
Frecuencia respiratoria	2 (14-40)	30 (12-45)	0.13	
Taquipnea >30	80 (40.4)	6 (60)	0.37	2.21 (0.61-8.1)
Saturación de oxígeno (mediana)	93 (63-99)	75 (64-97)	0.09	
PaO ₂ /FiO ₂ mmHg (49/9)	233 (80-451)	128 (43-258)	0.00	

Se construyó un modelo de regresión logística para mortalidad tomando las variables que en el análisis de componentes principales estiman un mayor riesgo de muerte. De éste modelo se obtuvo que las variables están asociadas a un desenlace fatal fueron: la obesidad ($p=0.042$, RM 6.8 [1.07 – 44]), tener un índice de Charlson de uno ($p=0.021$, RM 5.0 [1.28-20.3]) la taquipnea >30 ($p=0.039$, RM 9.4 [1.12-78.6]) y la alteración del estado de alerta ($p=0.014$, RM 19.1 [1.83 – 198.7]); no hubo factores protectores. (Tabla 7)

Tabla 7. Variables significativas en el modelo multivariado (regresión logística) para muerte.

	Vivos n=198, (95.1%)	Muertos n=10 (4.8%)	RM (IC95%)	p
Edad 20-49 años	79 (39.8)	8 (80)	14.6 (0.68-311.1)	0.085
Edad > 50 años	37 (18.6)	1(10)	1.9 (0-032-121.7)	0.74
Obesidad	29 (14.6)	7 (70)	6.8 (1.07-44)	0.042
Índice Charlson de 1	41(20.7)	4 (40)	5.0 (1.28-20.2)	0.021
>3 días en acudir a valoración	53 (26.7)	6 (60)	3.83 (0.54-27.1)	0.179
Taquipnea >30	80 (40.4)	6 (60)	9.4(1.12-78.6)	0.039
Alteración del estado de conciencia	3 (1.5)	3(30)	19.1(1.83-198.77)	0.014

Con 206 pacientes en los que se tenía información, se realizó un análisis de sobrevida para evaluar la probabilidad de muerte en relación al inicio tardío del tratamiento. Se observó que aquellos pacientes que iniciaron el tratamiento después del tercer día de inicio de síntomas, aumentaba el riesgo de muerte ($p=0.03$). (Figura 3)



Logrank test $P = 0.03$

Figura 3. Curva de sobrevida en relación a tiempo para atención médica (Kaplan-Meier).

A continuación se da una descripción detallada de cada uno de los pacientes infectados y que fallecieron. (Tabla 8)

Descripción Clínica, Epidemiológica y Viroológica de la Infección por el Virus de Influenza A H1N1 O-P en Dos Hospitales del Sur de la Ciudad de México

Tabla 8. Características de los pacientes muertos

Pacientes										
Variable	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Hospital	HGMGG	INCMNSZ	INCMNSZ	INCMNSZ	HGMGG	HGMGG	HGMGG	INCMNSZ	HGMGG	INCMNSZ
Edad	21	30	32	36	38	39	39	43	45	56
Género	Femenino	Masculino	Femenino	Femenino	Masculino	Femenino	Femenino	Masculino	Femenino	Femenino
Ocupación	Desempl.	Desempl.	Hogar	Desempl	Carpintero	Maestro	Hogar	Abogado	Hogar	Hogar
Vacuna vs influenza estacional	2006-2007	2008	No	No	No	No	No	No	No	No
Vacuna vs neumococo	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
Días desde el inicio de los síntomas a primer visita médica	Mismo día	8	1	Mismo día	2	1	3	2	7	4
Días a partir de inicio de los síntomas a la admisión hospitalaria e inicio del tratamiento	6	8	1	5	3	1	3	8	7	4
Días de inicio de síntomas a la muerte	8	8	10	18	5	3	3	21	19	12
Días de admisión hospitalaria a la muerte	2	Mismo día	9	13	2	2	Mismo día	13	13	8
Tabaquismo	No	No	Actual (IT= 2.6)	No	Pasado (IT = 1)	No	No	No	No	No
Comorbilidad	(IMC=33.3) Obesidad	(IMC = 73) Obesidad, SAOS, HAP	(IMC = 33) Obesidad ICC, TB peritoneal y en pericárdio	(IMC=17.7) Anorexia nervosa, LES, Uso de esteroides, Dermatitis carencial	(IMC=27.1) Sobrepeso EPOC	(IMC=41) Obesidad	(IMC=33) Obesidad, Diabetes mellitus	(IMC=46) Obesidad	(IMC = 40) Obesidad	(IMC=26) Sobrepeso Arritmia LES, CIV
Síntomas iniciales	Rinorrea, disnea, cefalea mialgias y fiebre	Disnea, Mialgias y malestar general	Odinofagia, tos, disnea, mialgias y fiebre	Disnea y mialgias	Tos, disnea y fiebre	Tos, disnea y mialgias	Rinorrea, tos, mialgias, malestar general y fiebre	Odinofagia, disnea, cefalea, mialgias y fiebre	Tos, conjuntivitis, disnea, mialgias, malestar general y fiebre	Tos y fiebre
SV al ingreso: Temperatura FC FR TAM	38 170 30 50.7	35 140 36 60	39 98 26 86.7	37 136 18 63.3	37 110 36 50.7	36.5 80 36 74	— — — —	37 118 45 100	40 115 32 54	37 70 18 83.3
Saturación	67	65	97	95	64	93	—	75	65	97
Admisión a UCI (días después de admisión al hospital)	Si (mismo día)	No	Si (5)	No	No	Si (1)	No	Si (mismo día)	Si (1)	Si (mismo día)

Descripción Clínica, Epidemiológica y Viroológica de la Infección por el Virus de Influenza A H1N1 O-P en Dos Hospitales del Sur de la Ciudad de México

Continuación de tabla 8

Tiempo de estancia en UCI	2		4			1		13	7	8
Ventilación NO invasiva	No	No	Yes	No	No	No	-	No	No	No
Ventilación invasiva	Si (días=2)	Si (días <1)	Si (días=4)	No	Si (días=2)	Si (días=1)	-	Si (días=13)	Si (días=13)	Si (días=8)
Laboratorios al ingreso:										
Hemoglobina	12	21	14.9	10	18.8	14.7	-	16.2	8	8.4
Hematocrito	35	67	-	-	55	46.2	-	-	26.1	24
Leucocitos	7000	13500	4800	16400	3000	17000	-	6500	18000	1500
PMN	76.5	70	78	83	85.3	64.9	-	82	89.3	86
Linfocitos	20.6	17	12	4	11.76	1.17	-	13.7	0.56	7.1
Linfocitos totales	1400	2295	576	656	400	200	-	890.5	100	10.5
Monocitos	0	4	8	4	0	.01	-	.39	5.65	6.1
Plaquetas	104	137	281	552	152	158	-	171	3.77	16
Glucosa	289	17	96	112	141	387	-	149	251	130
BUN	12	18	10.9	19	17	24	-	96	32.8	36
Creatinina	1.18	3.6	1	2	0.98	5.59	-	3.5	2.65	0.7
Na	138	136	136	137	135	139	-	135	141	138
K	3.5	6.4	4.4	5.9	3.6	5	-	4.7	6.2	4.1
CPK	490	-	-	-	873	1836	-	-	3128	-
TP	15	-	-	16	12	21	-	-	10.2	-
INR	1.4	-	-	1.7	1.14	1.96	-	-	0.91	-
DHL	1553	-	-	-	1142	15386	-	-	545	-
Bilirrubina	0.5	6.07	2.4	0.5	1.16	3.23	-	0.96	0.61	1.76
BDirecta	0.14	3.8	1	0.1	0.69	2.52	-	0.43	0.12	0.5
ALT	58	484	15	27	32	-	-	100	49	32
AST	166	1115	26	31	82	-	-	264	81	44
F. alcalina	95	123	NA	189	164	70	-	79	107	925
Albumina	2.4	2.17	3.8	1.3	1.5	1.4	-	2.8	1.9	1.4
pH	7.21	7.08	7.47	7.35	7.2	7.08	-	7.39	7.43	7.4
PaO2	30	27	53	44	43	82	-	97	32.9	NR
PaCO2	49	59	27.5	24	47	32	-	37.8	38.1	NR
HCO3	19	17.5	19.6	13	18	9.3	-	22.5	15	19.2
FIO2	45	21	21	21	100	21	-	100	60	40
SATO2	41	29	88	74	67	84	-	97.4	62	97
PaO2/FIO2 (Kriby)	73	128	252	209	43	178	-	97	56	257.5
Índice SOFA	10	11	4	5	4	9	-	7	7	7
Radiografías	TAC: Infiltrados alveolares difusos	No realizados	TAC: Infiltrado alveolar único apical	TAC: Infiltrados alveolares difusos	Rx: Infiltrados alveolares difusos	Rx: Infiltrados alveolares difusos	No realizados	TAC: Infiltrados alveolares difusos	Rx: Infiltrados alveolares difusos	TAC: Infiltrados alveolares difusos
Muerto en primeras 24 hrs de ingreso al hospital	No	30 min de admisión	No	No	No	No	Al ingreso a urgencias	No	No	No
Causa de muerte	FOM, SDRA	FOM	ICC	Candidiasis invasiva y aspergillosis invasiva	FOM, SDRA	FOM	FOM	FOM, SDRA	FOM	SDRA

HGMGG= Hospital General Manuel Gea González, INCMNSZ = Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán", IT= Índice tabáquico, IMC = Índice de masa corporal, SAOS= Síndrome de apnea obstructiva durante el sueño, HAP= Hipertensión arterial pulmonar, TB = tuberculosis, LES= Lupus eritematoso sistémico, EPOC= Enfermedad pulmonar obstructiva crónica, CIV= Comunicación interventricular, SV= Signos vitales, FC = Frecuencia cardiaca, FR= Frecuencia respiratoria, TAM= Tensión arterial sistémica, UCI= Unidad de cuidados intensivos, FOM= Falla orgánica múltiple, SDRA= Síndrome de dificultad respiratoria aguda, ICC= Insuficiencia cardiaca congestiva

Hallazgos de histopatología

Se le realizó necropsia a 3 (33.3%) de los 10 pacientes que fallecieron. Los hallazgos macroscópicos y microscópicos que se encontraron fueron los siguientes (el número de paciente fue tomado de acuerdo a la tabla 8):

- **Paciente 3:** neumonía hemorrágica con daño alveolar difuso, eritrofagocitosis en ganglios, bazo e hígado, atrofia de pulpa blanca y depleción linfoide en ganglios linfáticos. Se realizó rRT-PCR a muestras de tejido pulmonar, bazo, hígado y riñón, resultando positiva en el primer tejido, y se encontró PCR anidado para virus Sincicial Respiratorio en el tejido hepático y PCR anidado para Parainfluenza 2 en hígado y bazo. (Figuras 4 y 5)
- **Paciente 4:** edema y hemorragia intraalveolar reciente, daño alveolar difuso, eritrofagocitosis en médula ósea, ganglios linfáticos y bazo. Bronconeumonía bilateral por *Candida* y *Aspergillus*. Esofagitis, nefritis intersticial y dermatitis aguda ulcerada por *Candida*. Datos anatómicos de enfermedad carencial y desnutrición severa, trombosis antigua y reciente recanalizada con hiperplasia miointimal en vasos pulmonares. (Figura 6)
- **Paciente 10:** edema y hemorragia intraalveolar reciente, daño alveolar difuso, eritrofagocitosis en hígado y bazo. Bronconeumonía abscedada y cavitada por *Aspergillus fumigatus* con trombosis séptica. Laringotraqueítis aguda ulcerada y mediastinitis por *Aspergillus*. Dermatitis ulcerada superficial y paniculitis septal por cocos gran positivos.



Figura 4. Pulmón. Neumonía hemorrágica en lóbulo superior derecho. (paciente 3).

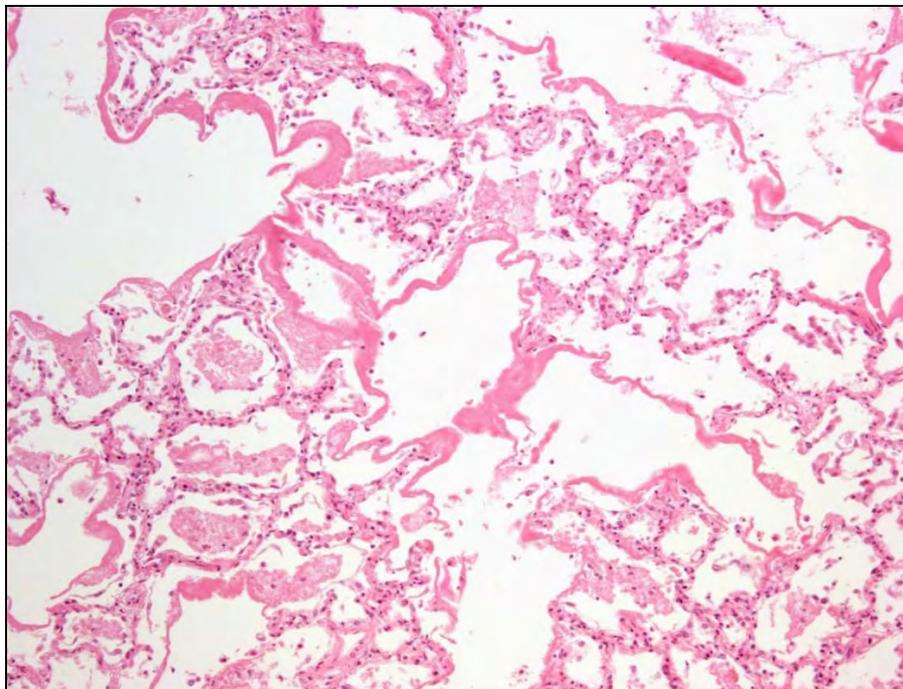


Figura 5. Pulmón. Neumonía hemorrágica con daño alveolar difuso (paciente 3). Tinción con hematoxilina y eosina (40 x).

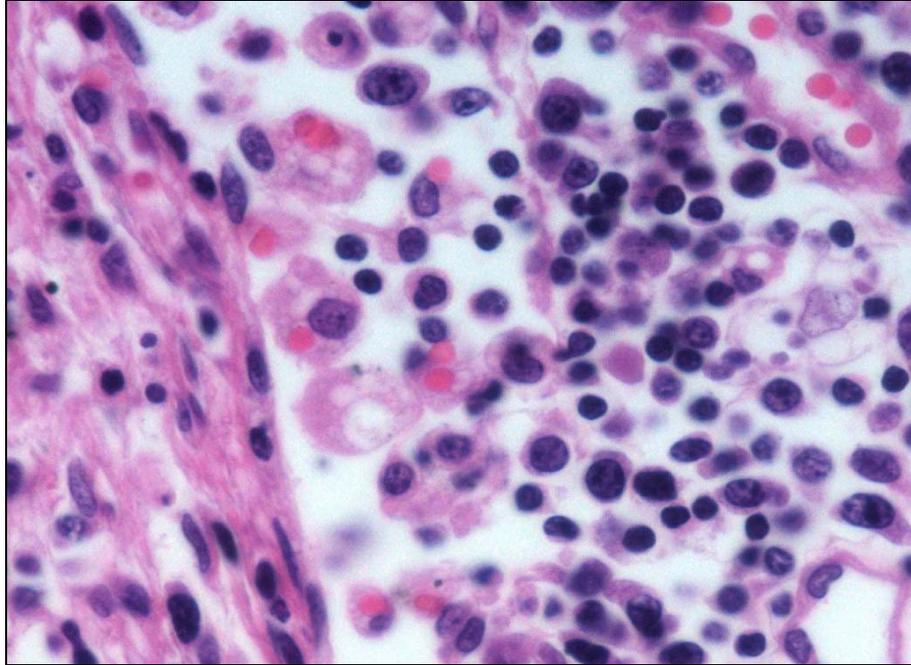


Figura 6. Ganglio linfático. Infiltrado linfocitario y abundantes macrófagos con eritrofagocitosis. (paciente 4). Tinción Hematoxilina y eosina (100x).

Hallazgos radiográficos

Al 34.1% de los pacientes se les realizó algún estudio radiográfico, 23 (32.3%) ambulatorios y 48 (67.6%) hospitalizados.

A 67 pacientes (94.3%), se les realizó telerradiografía de tórax, que mostró imágenes anormales en el 61.1% del total de los casos, con los siguientes hallazgos: patrón alveolar 63.4%, patrón intersticial 7.3%, patrón mixto en el 29.5%.

Se le realizó tomografía axial computada (TAC) de tórax a 35 pacientes (42.2%), de los cuales 91.4% tuvo un estudio anormal, con los siguientes

hallazgos: patrón alveolar 50%, patrón intersticial 3.1%, patrón mixto de predominio intersticial 12.5% y mixto de predominio alveolar en 31.2%. Se observaron infiltrados múltiples 84.3% de los pacientes. Otros hallazgos encontrados en este estudio fueron: imagen en vidrio despulido (53.1%), derrame pleural en (25%), atelectasias (9.3%), neumotórax (2.85%), nódulos pulmonares (6.25%), cavernas (2.85%) y derrame pericárdico (3.1%).

Efectuando un análisis de las alteraciones radiográficas entre el grupo de pacientes vivos y muertos se encontró que el tener una radiografía del tórax anormal se relaciona con muerte, sin embargo sin evidencia de algún patrón radiográfico en especial. (Tabla 9)

Tabla 9. Hallazgos radiográficos de pacientes vivos y muertos

	Vivos n= 198 (95.1%)	Muertos n= 10 (4.8%)	p	RM (IC95%)
Alteraciones radiográficas				
Rx tórax anormal hospitalizados 40/8	27 (67.5)	8 (100)	0.21	8.35 (0-45-155.6)
Rx tórax anormal Vivos general 63/8	33 (52.4)	8 (100)	0.02	1.24 (1.1-1.5)
Imagen focos múltiples 34/8	30 (88.2)	7 (87.5)	1	0.93 (0.9-9.7)
Infiltrado alveolar 33/8	23 (69.7)	8 (100)	0.26	7.6 (0.40-144.2)
Infiltrado alveolar difuso 28/8	25 (89.3)	7 (87.5)	1	0.84 (0.8-9.4)
Infiltrado alveolar único 28/8	3 (10.7)	1(12.5)	1	1.14 (0.19-7.1)
Infiltrado intersticial 41/8	14 (34.1)	0	0.18	0.11 (0.006-2.07)

Hallazgos de laboratorio

Se encontraron varias alteraciones en los exámenes de laboratorio en relación a gravedad de la enfermedad, las cuales se observaron tanto en los pacientes hospitalizados como en los muertos. En cuanto a los resultados de laboratorios de los pacientes muertos se observa una diferencia significativa en los valores de creatinina, alteración en pruebas de función hepática, TP, CPK, DHL, pH, PaCO₂ y saturación arterial de oxígeno, respecto a los pacientes hospitalizados. (Tabla 10)

Tabla 10. Características de los pacientes hospitalizados vs muertos.

	Hospitalizados vivos n=52 (25%)	Muertos n=10 (4.8%)	P	RM (IC95%)
Hallazgos de laboratorio				
Hemoglobina	14.35 (6.8-17.7)	14.7 (8-21)	0.70	12.75 (1.31-124.3)
Leucocitos 10 ³	8 (1.1-25)	7 (1.5-18)	0.78	
Linfocitos totales	900 (100-2640)	576 (100-2295)	0.14	
Plaquetas 10 ³	196.5 (47-690)	158 (16-552)	0.49	
Creatinina	0.84 (0.35-17.9)	2 (0.7-5.6)	0.003	
Alt. Pruebas de función hepática n = 32	8/25 (32)	6/7 (85.7)	0.03	
TP	10.6 (9.2-40.2)	15 (10.2-21)	0.04	
CPK	116 (18-4637)	135 (490-3128)	0.006	
DHL	217 (126-981)	1347 (545-15400)	0.002	
pH	7.42 (7.28-7.57)	7.35 (7.08-7.47)	0.004	
PaO ₂	55.75 (28-94.8)	43.5 (27-97)	0.15	
PaCO ₂	29 (17.5-42)	37.9 (24-59)	0.02	
Saturación arterial O ₂	91 (54-98)	74 (29-97.4)	0.05	

Hallazgos microbiológicos

Se obtuvo aislamiento microbiológico de 17 pacientes (7.6%), siendo 4 aspirados endotraqueales (23.5%), 5 cultivos de expectoración (29.4%) y 8 hemocultivos (47%). De los primeros se obtuvieron 2 aislamientos de *Klebsiella pneumoniae*, 1 de *Enterobacter cloacae* y uno con bacilos ácido-alcohol resistentes. En la expectoración se desarrollaron 2 aislamientos de *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina (SASM), 2 de *Klebsiella pneumoniae* (40%) y 1 de *Haemophilus parainfluenzae*. En sangre se obtuvieron 6 aislamientos de SASM, 1 de *H. influenzae* y 1 de *Enterococcus faecium*.

No hubo aislamientos en los cultivos postmortem de las necropsias.

Análisis de componentes principales

En el análisis de componentes principales se pudo observar que las variables asociadas con un riesgo mayor a muerte fueron de menor a mayor magnitud: la presencia de insuficiencia cardiaca o enfermedad pulmonar, el ser mujer, ser un adulto joven (20-50 años), uso de esteroides, obesidad, la presencia de alguna comorbilidad y la ventilación mecánica; dentro de los síntomas se encontró la frecuencia respiratoria alta, frecuencia cardiaca alta, vómito, disnea y diarrea. Indicadores de alto riesgo de muerte fueron la frecuencia respiratoria alta, la frecuencia cardiaca alta, saturación de oxígeno baja, linfocitos totales bajos, glucosa baja, nitrógeno ureico alto, creatinina alta e hipercalcemia.

Algunas variables se identificaron con este análisis como protectoras contra muerte. Estas variables fueron tos, fiebre, cefalea y rinorrea, muy probablemente

indicadores tempranos de la enfermedad que permitieron que el paciente fuera atendido al inicio de su enfermedad, o bien, aquella maniobra terapéutica que permita un adecuado desenlace como la ventilación mecánica no invasiva. Así pues, el componente principal 2 agrupó las variables asociadas a enfermedad respiratoria así como sus indicadores en los cuadrantes superiores e inferior a la patología relacionada. (Figura 7)

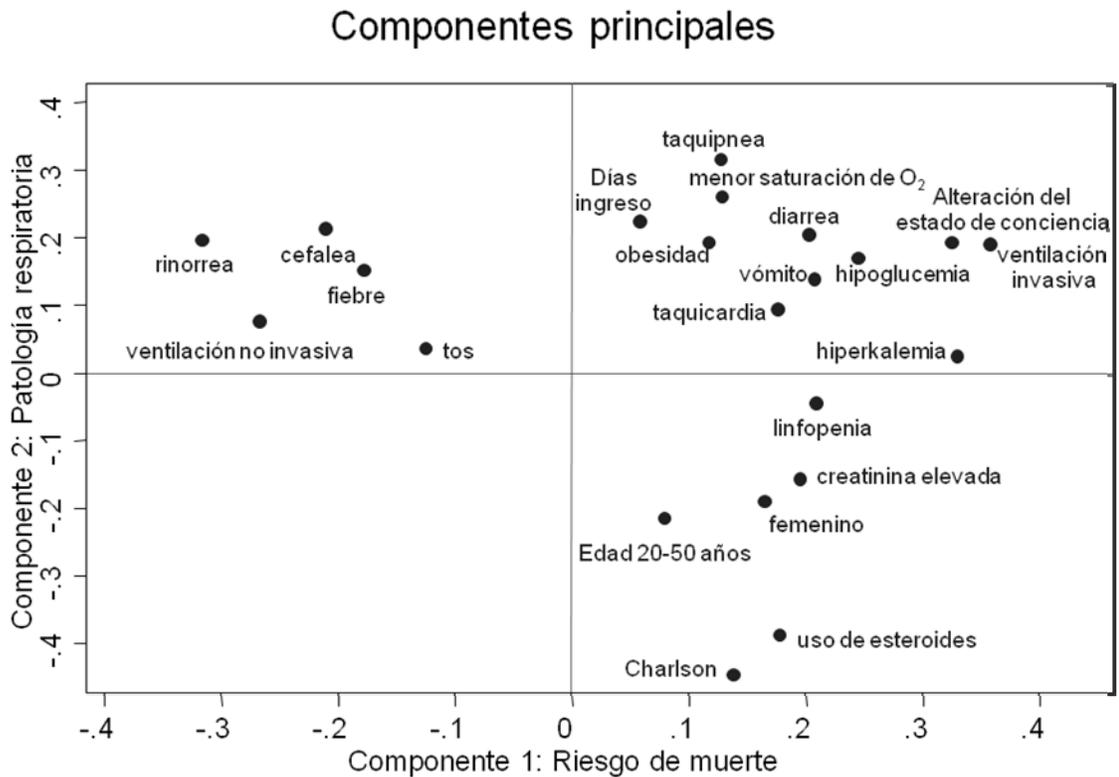


Figura 7. Componentes principales para muerte.

Excreción viral

En 9 pacientes se tomaron muestras para definir el patrón de excreción viral (4 fueron del INCMNSZ y 5 del HGMGG). Cinco pacientes (55%), fueron del género femenino. La mediana de edad fue de 28.5 años, 6 estuvieron hospitalizados. La mediana del IMC fue de 31.5 kg/m². De las muestras tomadas fueron positivos 8 hisopados nasofaríngeos, 4 muestras de heces, 1 muestra de orina y 1 aspirado endotraqueal. 3 pacientes (33.3%) presentaron en 2 muestras aislamiento viral y 1 paciente (11.1%) tuvo aislamiento en las 4 muestras. (Figura 8)

La mediana de inicio de tratamiento fue de 1 (1-10) día. Los pacientes con tiempo evolución más largo para su atención médica, tuvieron un mayor tiempo de excreción viral, lo mismo que en quienes se inició más tardíamente el tratamiento antiviral. El paciente con aislamiento viral en 4 distintos sitios muestreados, tuvo apoyo mecánico ventilatorio en UCI, y como continuaba con excreción viral al día 2 de tratamiento completo, se decidió duplicar dosis de oseltamivir; el resto de los pacientes recibieron tratamiento a dosis habitual. (Figura 8)

Al paciente que tuvo tiempo de excreción viral más prolongada (25 días en aspirado endotraqueal), se le realizó búsqueda de virus en hisopado nasofaríngeo desde el inicio de su atención. Este paciente se presentó un poco antes del inicio

de la alerta sanitaria, y su muestra se procesó por inmunofluorescencia, con resultado negativo. No se inició tratamiento antiviral en ese momento sino hasta el día 10 de estancia hospitalaria, ya que ante la sospecha clínica se decidió repetir el aspirado endotraqueal, obteniéndose resultado positivo en esta muestra en la rRT-PCR.

De este grupo ninguno de los pacientes falleció.

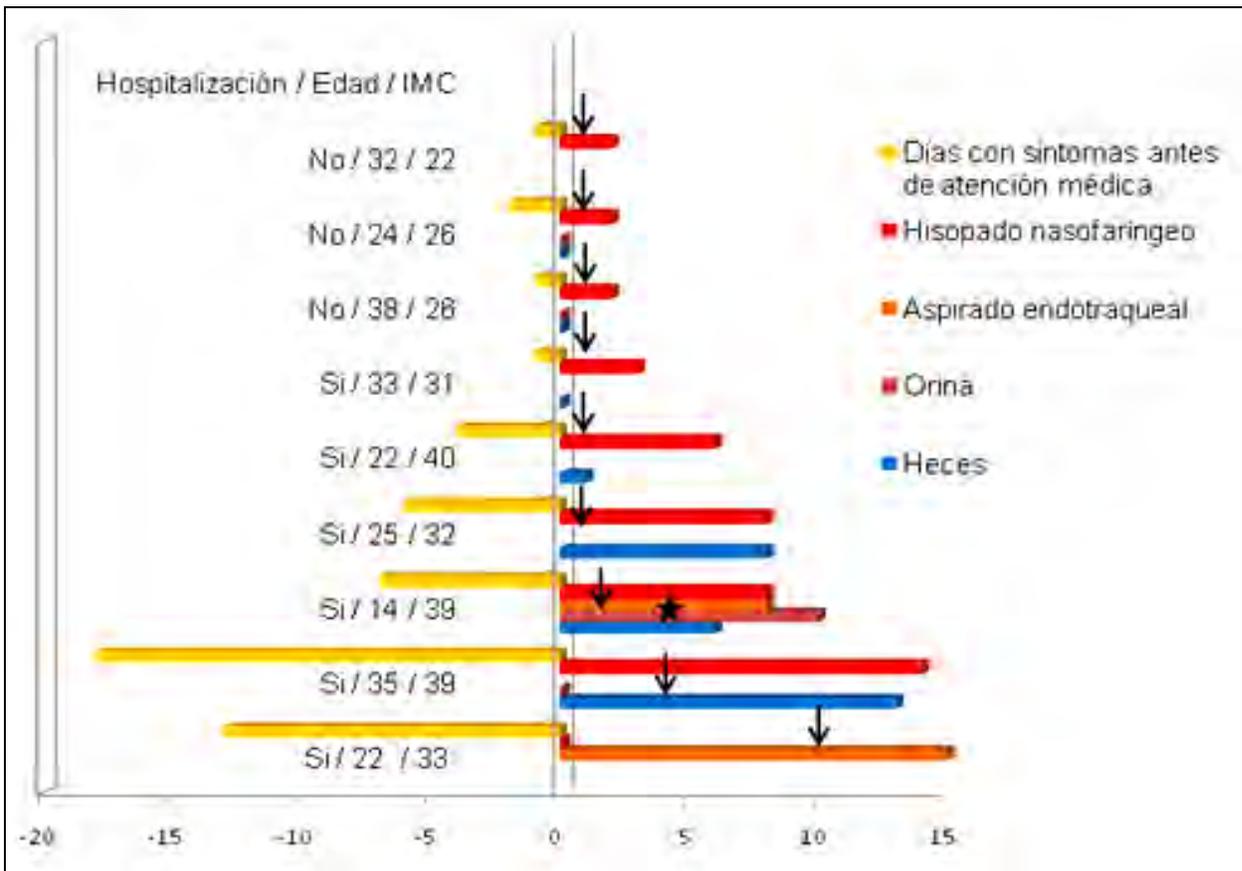


Figura 8. Excreción viral. Características generales de los 9 pacientes (derecha). Histograma de excreción viral, donde se observa el tipo de muestra / tiempo de aislamiento. Flecha = Inicio de tratamiento. Asterisco = Doble dosis de tratamiento

Secuenciación

Se realizó la secuenciación de fragmentos amplificados por rRT-PCR de HA (14 muestras) y NA (15 muestras). Para la comparación entre las diferentes cepas, se realizó el alineamiento de estas secuencias y se generó un dendograma para cada una de las proteínas, sin observar diferencia entre las HA y la NA entre las diferentes cepas de este grupo de aislamientos. (Figuras 9 y 10)

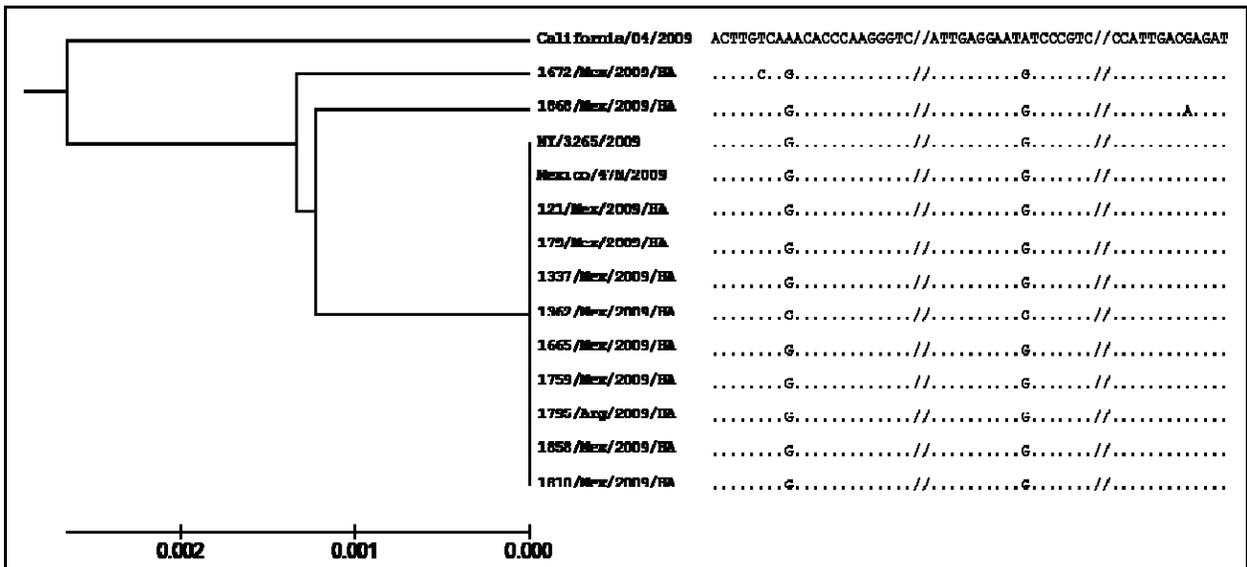


Figura 9. Dendograma por secuencia de HA del virus de influenza A H1N1 aislados en este grupo.

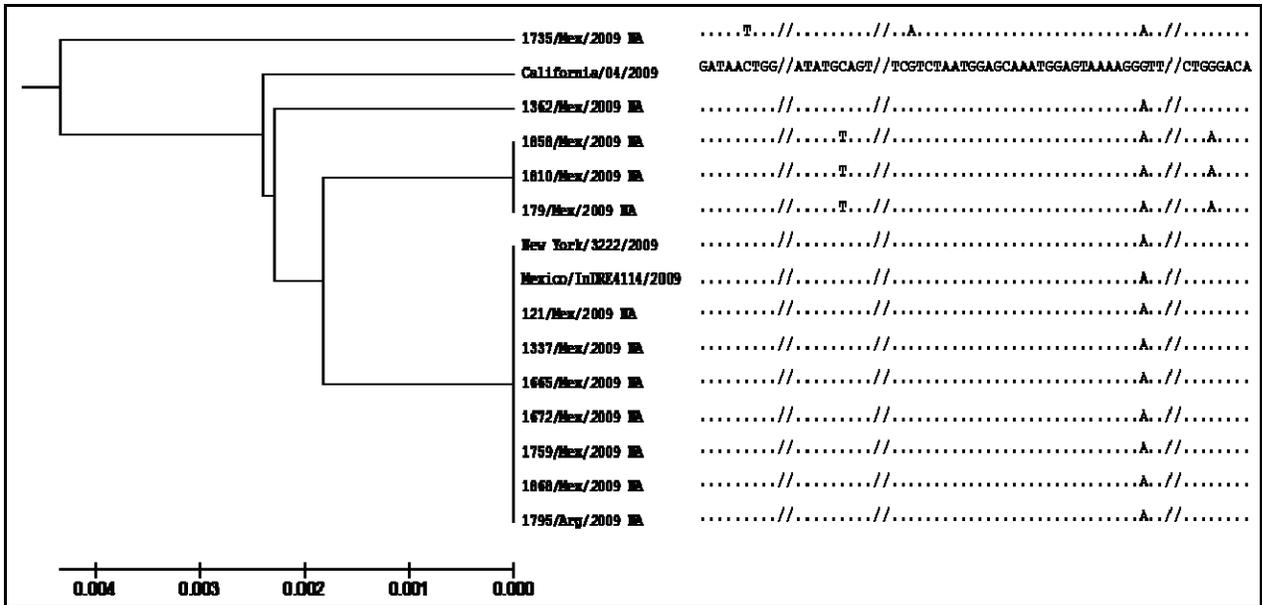


Figura 10. Dendrograma por secuencia de la NA del virus de influenza A H1N1 aislados en este grupo

Carga Viral

Se realizó la medición cuantitativa de la carga viral obtenida en la rRT-PCR a 158 muestras (con curvas bien definidas), graficándose la carga viral expresada en logaritmo base 10 y el número de días de evolución de los síntomas respiratorios. A través de un análisis de regresión lineal se estimó que el promedio de la carga viral en el día de inicio de síntomas fue de $3.95 \log^{10}$ (10,000 copias), y por cada día que transcurría se presentó una disminución del -0.11 del \log^{10} de la carga viral.

Para este análisis se excluyeron los 3 pacientes con datos de carga viral a los 14 y 18 días debido a que representaban un tamaño de muestra muy pequeño, que hacía difícil la estimación de la relación entre las variables en estos últimos días. Se decidió no quitar de la grafica estas cargas virales por la oportunidad única de contar con estos datos que evidencian lo prolongado que puede ser la excreción del virus en estos pacientes. (Figura 11)

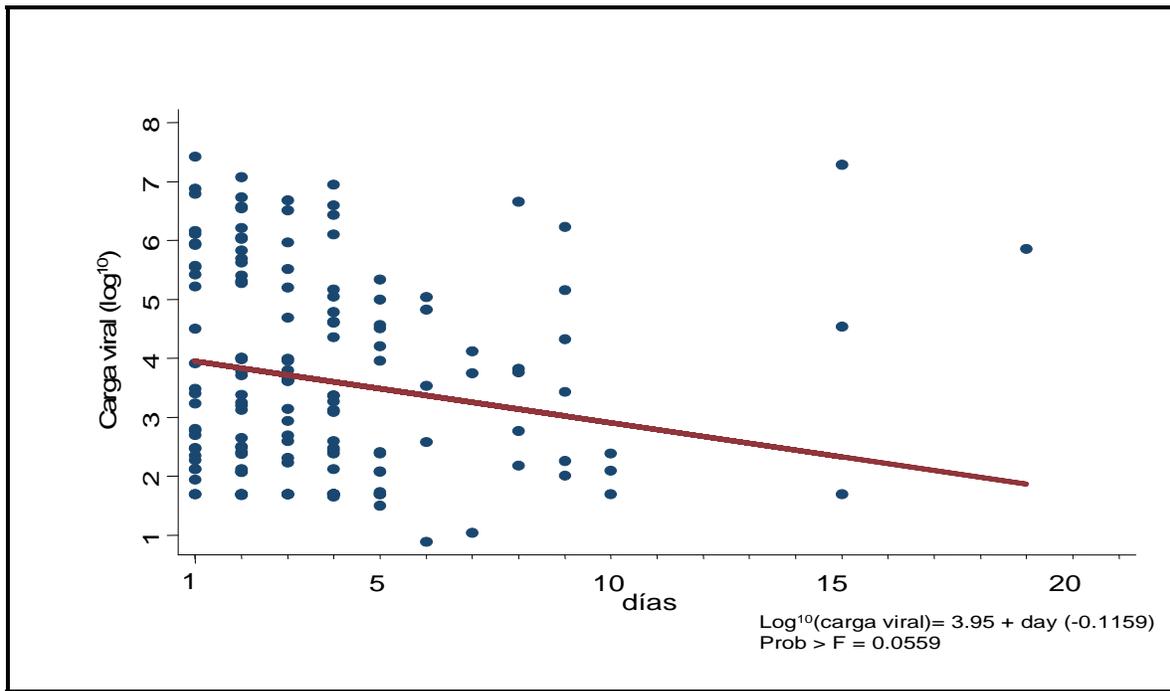


Figura 11. Días de evolución en relación a la carga viral.

DISCUSIÓN

A finales de febrero y principios de marzo de este año se reportó un incremento en el número de casos por enfermedad respiratoria aguda en el país⁴³. Posteriormente, a principios de abril se reportó un brote de enfermedad respiratoria aguda en el estado de Veracruz, dando notificación del mismo a la Organización Panamericana de la Salud (PAHO). En este tiempo, se reportó en el estado de Oaxaca un caso de neumonía atípica fatal en una mujer joven. En el INDRE no se logró tipificar al agente causal de estos casos, por lo que se solicitó apoyo a los centros colaboradores de la OMS en Canadá y los CDC para su identificación. El 23 de abril se realizó la notificación que se trataba de un virus de influenza A H1N1 O-P, y unas horas después se confirmó que era la misma cepa que se había reportado en dos niños en California en el mes de abril⁴³.

Con un número de casos de infección respiratoria en aumento, y una nueva cepa del virus de influenza, se inició una alerta epidemiológica en la Ciudad de México, ante la posibilidad de una epidemia de influenza. Se solicitó que las personas que tuvieran síntomas de ESI acudieran a las unidades hospitalarias.

En los hospitales del sur de la ciudad, durante este período, se observó un incremento importante en el número de consultas por síntomas respiratorios. En particular, en el INCMNSZ y en el HGMGG estos pacientes fueron identificados directamente en los servicios de urgencias y en filtros que se colocaron estratégicamente. La figura 12 muestra un ejemplo de éstos en el INCMNSZ.

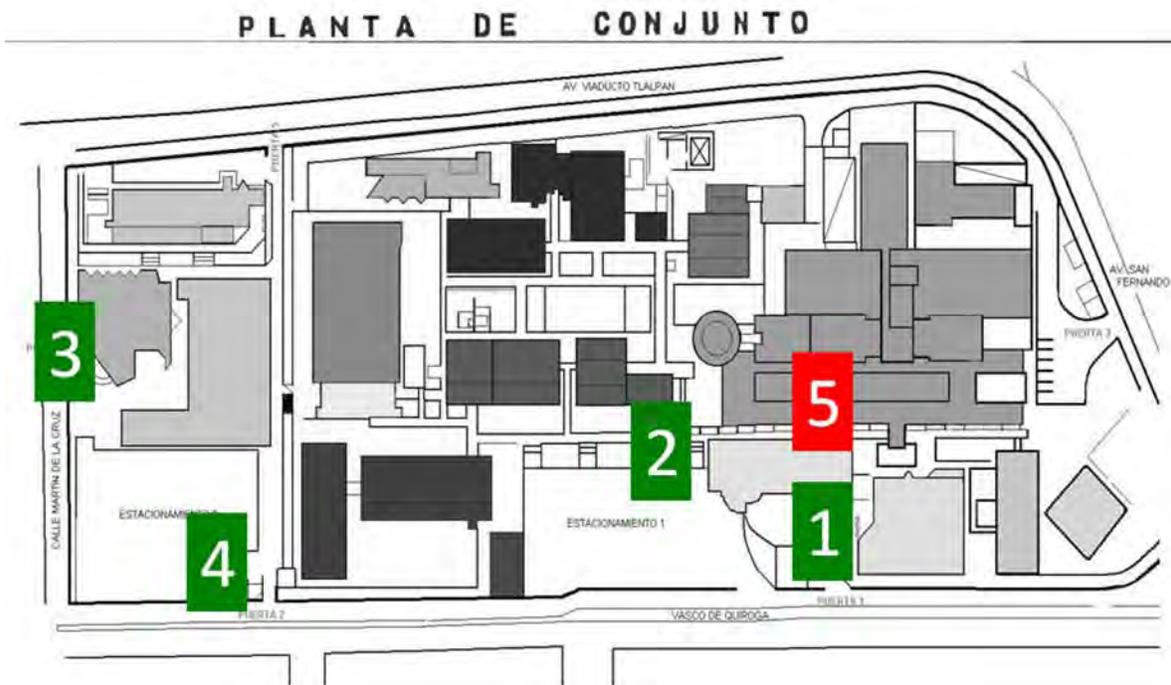


Figura 12. Localización de los filtros hospitalarios. Se muestra en un plano del INCMNSZ cuántos y donde fueron colocados los filtros de síntomas respiratorios.

El mayor número de pacientes se revisó durante la segunda mitad de abril y la primera de mayo. Llama la atención la disminución en el número de casos que se observó en los días posteriores de la toma de medidas de distanciamiento social, tanto de los casos de enfermedad respiratoria, como en los confirmados para influenza A H1N1 O-P. (Figura 2)

Como se puede observar en la figura 2, el número de consultas en ambos hospitales se incrementó importantemente, llegando el día de mayor afluencia hasta 213 consultas tan sólo por síntomas respiratorios, de los cuales correspondieron a 21 pacientes con diagnóstico de influenza A H1N1 O-P, lo que representó el 9.8% para ese día.

Igualmente se observó que posterior al *cenit* comentado, el número de consultas persistió en un promedio de 41 consultas por día en los siguientes 15 días. Esto tiene repercusiones en el exceso de trabajo para los servicios de urgencias, y por ende en las complicaciones agregadas a esto, como son la saturación de los servicios de urgencias, ausentismo laboral, menor calidad en la atención y mal empleo de los recursos materiales⁸⁵⁻⁸⁶.

La prevalencia de la infección por influenza A H1N1 O-P en aquellos pacientes que cumplieron criterio de ESI fue del 20%; sin embargo, hay que tener en mente que en aquellos con resultados negativos y un cuadro de ESI, pudieron estar presentes situaciones que hayan dado dicho resultado como negativo, como son la mala técnica en la toma de muestra, el tiempo de evolución del padecimiento prolongado, ya que de preferencia deben tomarse muestras en las primeras 72 hrs, y las limitaciones propias del estudio de biología molecular ⁸⁷.

En relación a lo mencionado y con la intención de realizar diagnóstico diferencial etiológico se realizó PCR anidado para detectar a otros patógenos virales, encontrando que 421 muestras (52.6%) fueron positivas para virus diferentes a Influenza A; siendo el 5.13% por Influenza B, 47% por Parainfluenza (tipo 1=14.2%, tipo 2=17%, tipo 3=0.63%, coinfección por tipo 1 y 2=14.8% y coinfección por tipo 1 y 3= 0.25%) y 0.5% por virus Sincicial Respiratorio, el cual siempre se presentó como coinfección con Parainfluenza.

En México se ha determinado la estacionalidad de la infección por los virus respiratorios en algunos estudios locales; se ha observado que se han encontrado al inicio de la primavera, aunque en baja cantidad, al menos esto principalmente en niños ⁸⁷. Estos virus son causantes enfermedad en el adulto, aunque con menor agresión que en los niños ⁸⁸. Por los hallazgos encontrados el virus que más predominó fue el de Parainflunza por lo que pudo haber correspondido a un brote agregado a la pandemia.

Un paciente muerto presento además de la infección por virus de Influenza A H1N1 O-P coinfección con virus Sincicial Respiratorio y Parainfluenza 3. No hay mucha literatura sobre coinfecciones virales en pacientes hospitalizados, sin embargo en un estudio pediátrico se encontró una coinfección viral en el 3% de las infecciones de vías respiratorias bajas ⁸⁹, sin aclarar el cuadro clínico. No se puede descartar que esta paciente haya tenido una respuesta inflamatoria más importante tanto a nivel pulmonar como sistémico, lo que pudo haber contribuido al desenlace fatal.

El 47.3% del resto de las muestras que habían resultado negativas para Influenza A H1N1 O-P fueron negativas para estos virus también.

Tanto el INCMNSZ como el HGMGG son hospitales de referencia; sin embargo, ambos abrieron sus puertas a la población general. A pesar de ello, atendieron poblaciones diferentes, pues en el primero se observa un mayor número de enfermos con padecimientos reumatológicos y uso de esteroides, y en el segundo pacientes más jóvenes y sin comorbilidades.

Los pacientes que acudieron al HGMGG presentaron un cuadro de mayor gravedad, como lo demuestran los síntomas al ingreso, ya que acudieron con mayor frecuencia respiratoria, disnea, menor saturación de oxígeno y menor índice PaO_2/FiO_2 . Lo anterior muy probablemente estuvo en relación al tiempo que tardaron los pacientes en acudir a valoración hospitalaria, pues tuvieron una mediana de 3.1 días, al contrario del INCMNSZ que fue de 2.36 días; esto pudo ser debido a que los pacientes sanos, o no acuden, o tardan más tiempo en acudir a valoración médica por los cuadros de infecciones respiratorias, y en ese momento no había mucha información acerca del cuadro clínico o complicaciones que pudieran presentarse con esta cepa.

A pesar de las diferencias en el cuadro clínico de los pacientes entre ambos hospitales, la gravedad de la enfermedad ni los laboratorios en los pacientes hospitalizados fueron diferentes entre ambos hospitales.

El INCMNSZ tuvo un mayor número de pacientes vacunados para influenza estacional de la temporada 2008, lo cual está en relación a la mayor comorbilidad de los pacientes del Instituto y a que el programa de vacunación en el adulto tiene mucha difusión entre el personal médico y los pacientes de esta institución.

En este estudio, el 29.8% del total de los casos infectados requirió hospitalización y el 5.5% del total de las ESI; en los E.U.A., hasta el final de este estudio, se reportaba una tasa de hospitalización, en el grupo de edad entre los 25 y 49 años, de 1.1/100,000 habitantes⁹⁰.

En cuanto al tabaquismo, se observó que el 37.1% de los hospitalizados presentaban dicha condición. Se conoce que en comparación con los no fumadores, quienes consumen tabaco presentan un mayor riesgo de adquirir infecciones virales de vías respiratorias superiores⁹¹, y tienen una mayor tasa de infección y gravedad de la enfermedad durante las epidemias⁹².

El tiempo de atención hospitalaria desde el inicio de síntomas fue mayor en los pacientes que requirieron hospitalización, lo cual traduce que en aquellos pacientes que no tienen una evaluación oportuna la afección puede ser mayor, muy probablemente por un mayor daño del tracto respiratorio inferior por el virus; también nos indica que la población no cuenta con una adecuada cultura de evaluación temprana de los padecimientos respiratorios, y que probablemente exista una inadecuada difusión de los síntomas relacionados a la infección por influenza y sus complicaciones.

Se observó que los criterios durante la evaluación para decidir el internamiento fueron tanto clínicos como radiográficos, ya que los pacientes que referían disnea, presentaban saturación de oxígeno < 90%, hipotensión, frecuencia respiratoria elevada, alteraciones a la exploración de los campos pulmonares, y en la mayoría de quienes tuvieron alteración en la telerradiografía de tórax, se decidió su hospitalización. Ahora bien, en el análisis se encontró que los datos clínicos relacionados para la hospitalización fueron manifestaciones respiratorias graves, que por ende hacen que un paciente requiera vigilancia, tal como la presencia de disnea, taquipnea >30 o hipoxemia.

Esto indica que en estos pacientes hay una afección muy importante del aparato respiratorio por las manifestaciones clínicas, y que la presencia de otros síntomas sistémicos no son indicadores para hospitalización.

El uso de esteroides se observó en 9 (14.5%) pacientes que se hospitalizaron y en 3 (4.8%) de los no hospitalizados. Los pacientes con uso de estos fármacos tienen dos veces más riesgo de infecciones en general, y de las vías respiratorias superiores como es la influenza⁹³. Por ello, se recomienda la vacunación de estos pacientes anualmente. En nuestro grupo, únicamente 2 pacientes (16%) de quienes tenían uso de esteroides estaban vacunados; hay que considerar sin embargo, que también en ellos la seroconversión puede ser menor⁹³.

Dentro de las comorbilidades específicas, la obesidad no había sido identificada previamente como factor de riesgo de complicaciones severas de la influenza estacional; sin embargo se ha asociado con múltiples comorbilidades y trastornos fisiológicos (por ejemplo, estado proinflamatorio y resistencia a la insulina), limitaciones físicas y alteraciones farmacocinéticas que pueden complicar una enfermedad aguda⁹⁴.

En un modelo animal, los ratones obesos tenían significativamente mayor mortalidad cuando se infectaban con el virus de influenza⁹⁵. Los obesos, como se ha comentado, tienen una mayor prevalencia comorbilidades asociadas a complicaciones por influenza, como enfermedades metabólicas o cardiopulmonares. Puede existir el papel de algunas hormonas sintetizadas en el tejido adiposo, como la leptina, que pudieran provocar alteración del sistema inmune y por lo tanto propensión a infecciones⁹⁶⁻⁹⁷; sin embargo, se requieren más estudios al respecto en este tipo de pacientes.

El índice de Charlson es un método que clasifica condiciones comórbidas y el riesgo que tienen para muerte, dependiendo de dicha clasificación. Existen hasta más de 5 categorías. El riesgo de muerte a un año para la categoría 1 es de 26%⁹⁸. A pesar de que en el análisis univariado el tener Charlson de 1, no salió significativo, ésta categoría tuvo gran importancia en el multivariado, pues significa que con tan sólo tener una patología hay un riesgo de morir, lo cual es meritorio en el tratamiento oportuno de los pacientes y en la prevención que se les ofrecerá con la vacunación.

El índice $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ fue el único parámetro de laboratorio que se relacionó con hospitalización, lo que refleja el daño que causa la infección en el parénquima pulmonar a nivel alveolar, disminuyendo el intercambio gaseoso. Diez (16.1%) pacientes del grupo de hospitalizados, presentaron criterios de daño pulmonar agudo al ingreso (DPA) y 13 (20.9%) pacientes presentaron síndrome de insuficiencia respiratoria aguda (SIRA). Es importante mencionar que la mayoría de los pacientes eran menores de 40 años, y aunque la presencia de comorbilidad fue un factor que apoyó la hospitalización, no se encontró patología respiratoria o cardiovascular que estuviera en relación a la alteración pulmonar, por lo que el daño pulmonar pudo haber sido únicamente primario, teniendo el antecedente que las infecciones virales puede ocasionarlo; dentro de los hallazgos histopatológicos pulmonares, en 2 de las necropsias se encontró daño alveolar difuso, que está bien descrito en el SIRA primario.

El índice $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ en los pacientes que fallecieron fue de una mediana de 128 (43-258 mmHg), lo cual indica un mayor daño pulmonar; en reportes previos se ha descrito que los pacientes con DPA el riesgo de muerte no es diferente a los pacientes con SIRA, con un 38.5 y 41%, respectivamente ⁹⁹.

Se identificaron 3 variables como factores de riesgo en el análisis multivariado tanto para hospitalización como para muerte, incluyendo la obesidad, un índice de Charlson de 1 y la taquipnea mayor a 30.

Como se ha mencionado la obesidad es un factor que previamente no se había descrito como riesgo para esta infección, y es una comorbilidad no evaluada por el índice de Charlson, la cual, si se sumara a este último, por el hecho de tener 2 comorbilidades aumentaría aún más el riesgo de infección.

Evidentemente el hecho de ser una infección con afección pulmonar tiene repercusión en la fisiología de la vía respiratoria, por lo que la taquipnea es signo que pudiera estar hablando de una alteración más importante, como pudiera ser hipoxemia y a su ser un dato indirecto de otros síntomas como la disnea.

En cuanto a la mortalidad, ésta correspondió al 4.8% de la población total infectada, la cual es mayor a la reportada por Garske *et al*, pues él menciona que este virus tiene una letalidad aproximada del 0.5%, similar a la influenza estacional¹⁰⁰; sin embargo, dicha mortalidad parece que varía de país en país, además de que las muertes han ocurrido en personas más jóvenes que en las ocurridas por influenza estacional^{40, 44}.

Considero que hay factores relacionados a este incremento en la letalidad en nuestro estudio: 1) Los hospitales son centros de referencia, uno de segundo y otro de tercer nivel, los cuales abrieron sus puertas a la población general, por lo que llegaron pacientes de varias zonas de la ciudad; 2) La comorbilidad estuvo presente en el 100% de los muertos, algunos más de una, por lo que aumenta el riesgo de muerte, por el simple hecho de tenerla; 3) La población mexicana en general no acude tempranamente a evaluación médica, sino hasta que presentan molestias mayores, lo cual pudo haber hecho que se agravaran los síntomas; el impacto de la infección por influenza no estaba muy difundida en la población en general y médica, y es una enfermedad que con anterioridad se buscaba poco por el personal de salud, lo cual pudo haber influido en un deficiente diagnóstico oportuno, y 4) Muchos pacientes que acudieron con ESI en esa fecha tuvieron una prueba negativa (ya sea por mala técnica en la toma, almacenaje o procesamiento de la muestra), lo cual no significa que no hayan padecido la enfermedad.

Hubo factores relacionados a mortalidad que se repitieron en el análisis univariado hecho con la población general, así como con la población de pacientes hospitalizados. De éstos, tanto la disnea como la relación PaO_2/FiO_2 alterada fueron más frecuentes en los pacientes muertos. Dichos parámetros hablan de afección a nivel respiratorio bajo, lo cual habla de un mayor daño pulmonar.

También los parámetros de laboratorio son un buen marcador que nos habla de progresión de la enfermedad, pues se encontraron varios indicadores de una disfunción de diferentes órganos, como las pruebas de función hepática (BT, AST, FA, TP y glucosa), función renal (creatinina), función muscular (CPK) y función respiratoria (pH, PaCO₂ y saturación arterial de oxígeno). Dichos parámetros también se repitieron en el análisis univariado de pacientes vivos y hospitalizados para muerte.

No hubo oportunidad de realizar rRT-PCR a múltiples tejidos con la finalidad de encontrar presencia viral en el tejido de todos los pacientes que fallecieron, como ha sido el caso de los pacientes muertos por la infección de influenza A H5N1¹⁰¹; sólo se realizó en 2 necropsias, encontrando únicamente en una de ellas la prueba positiva a nivel del tejido pulmonar; sin embargo, no hay que olvidar que factores como el tiempo de toma y procesamiento de la muestra, tomando como referencia el tiempo de inicio de síntomas, pudo haber influido en no encontrar la presencia del virus, como sucede en la infección por influenza estacional¹⁰².

Hasta este momento no se considera a este virus altamente patogénico¹⁰⁰; sin embargo, ¿de qué murieron estos los pacientes?. Todos los pacientes que murieron tenían alguna comorbilidad, de las cuales la obesidad fue la más frecuente, la cual *per se* condiciona mortalidad en la población general¹⁰³⁻¹⁰⁴, así como aquellos que acuden a una terapia intensiva¹⁰⁵; como se ha expuesto anteriormente, hay factores que pudieran estar relacionados entre la influenza y la obesidad.

Ahora bien, por los hallazgos de laboratorio encontrados en los laboratorios, hay evidencia de una mayor afección orgánica en los pacientes que murieron, como lo demuestra un mayor puntaje de SOFA, 7 ($p=0.02$). Dicha afección pudiera estar en relación a la falla respiratoria que condiciona el virus y por ende a una importante hipoxemia generalizada, que va dañando la función de varios órganos (falla orgánica múltiple) y que finalmente provocó la muerte en estos pacientes. Es importante el efecto que muy probablemente haya desencadenado la infección del virus a nivel inmunológico, en cuanto a la producción de citocinas se refiere, pues así como se ha descrito en casos previos de infección por influenza aviar H5N1, pudiera estar implicada la tormenta de citocinas en estos pacientes; sin embargo, hasta la fecha no hay información acerca de esto.

Hay varios determinantes virales involucrados en la patogenicidad de la infección por los virus de influenza (sensibilidad de la HA a la activación de las proteasas del huésped¹⁰⁶, especificidad de unión a los receptores de ácido siálico del huésped y los complejos de la polimerasa del virus. Tanto la PB1, PB2 y PA, inhibición de la respuesta inmune –disminución en la producción de interferon-), los cuales no se han especificado en este virus, y son campo de futuros estudios para normar rutas terapéuticas.

Por otra parte, se observó que en aquellos pacientes que inician tardíamente el tratamiento antiviral es un factor para de riesgo de muerte. Colocando un punto de corte a los 3 días, se observa una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.03$), por lo que a pesar de las recomendaciones que se dan con influenza estacional, sugiero prolongar la ventana para el inicio de esta infección.

Así como hubo factores de riesgo para muerte, también se encontraron factores protectores. Fueron datos clínicos: cefalea y rinorrea, los cuales pueden estar en relación a una afección más localizada a vías respiratorias altas, o así como a una atención más temprana de la enfermedad antes del involucro de tejidos más profundos.

Dentro del análisis de componentes principales se identificaron variables que pueden agruparse como factores de mayor riesgo para muerte, o bien protectores para ésta. Se puede observar que las variables con mayor peso en relación a muerte tienen que ver con la falla orgánica múltiple que presentan los pacientes (falla respiratoria, creatinina y potasio elevados, así como datos indirectos de falla hepática como la glucosa baja).

En cuanto a la protección se identificó que la rinorrea y la cefalea presentaron mayor peso, probablemente por ser una infección localizada a las vías respiratorias altas o por acudir con un síntoma diferente a un síntoma respiratorio, en el caso de cefalea; sin embargo el uso de ventilación mecánica no invasiva es una maniobra que permite un mejor desenlace, por el menor número de complicaciones relacionadas a su uso, al contrario de la ventilación mecánica invsiva.

De los hallazgos histopatológicos resalta la presencia de daño alveolar difuso y hemorragia pulmonar, el cual ha sido descrito en las otras pandemias, en la infección por influenza A H5N1 y en casos de influenza estacional grave ^{101-102,} ¹⁰⁷; se ha relacionado a la actividad local del proceso inflamatorio originado por el virus. Sin embargo, falta información más detallada para poder afirmarlo.

También se observó la presencia de eritrofagocitosis, la cual se ha observado en varias series de infección por influenza en un porcentaje hasta del 18% ¹⁰²; sin embargo no se tomaron marcadores bioquímicos que apoyen el diagnóstico de éste, por lo que sugiero que a futuro se lleven a cabo para su correlación.

Sólo en un paciente se observó la presencia de bacterias en el tejido pulmonar, sin embargo no tuvo aislamientos bacterianos en vida, a pesar de su búsqueda. No se solicitó cultivo *postmortem* del tejido. En relación a esto, es interesante observar que muy pocos aislamientos bacterianos se evidenciaron en este estudio, siendo el SASM el microorganismo más frecuentemente encontrado, sobre todo en expectoración y en hemocultivos (2 y 6 pacientes, sin cotejar entre los pacientes). Dos de los pacientes con bacteriemia fallecieron, sin poder evidenciar la presencia de endocarditis.

El *S. aureus* es un organismo frecuentemente encontrado en las coinfecciones, y se ha relacionado a un curso fulminante, lo cual se ha descrito en series epidémicas de influenza¹⁰⁸. El segundo microorganismo aislado más frecuentemente fue *K. pneumoniae*, el cual no se había descrito en otras series. Esta baja frecuencia de coinfección bacteriana puede reflejar la distribución más baja de complicaciones neumónicas que se ha observado también durante temporadas de influenza interpandémica, secundaria muy probablemente a cambios en el acceso a atención médica, mejores técnicas para el diagnóstico diferencial de infecciones respiratorias virales y bacterianas, la disponibilidad de la vacuna antineumocócica y la disponibilidad de tratamiento antimicrobiano de amplio espectro^{55, 102}.

Algo que resalta es la coinfección por infección fúngica en 2 pacientes sometidos a necropsia, encontrando Candidiasis y Aspergilosis invasivas. Estas coinfecciones se han reportado anteriormente ¹⁰², (hasta el 2008, sólo 5 casos ^{58, 109}), sobre todo en infección por influenza estacional, asociada principalmente a inmunosupresión, denotando que hay una fuerte alteración del sistema inmunológico previa y a la par de la infección por influenza.

Los estudios imagenológicos son una herramienta útil para evaluar el daño pulmonar por la infección. Se obtuvo información imagenológica en el 77% de los pacientes hospitalizados. La radiografía de tórax fue un estudio sumamente importante para decidir el internamiento de los pacientes, ya que fue anormal en el 72.5% de los pacientes hospitalizados y en el 26.1% de los ambulatorios ($p < 0.001$, OR 3.87 [IC95% 1.74-8.64]). Y el hecho de tener una imagen radiográfica anormal, fue un factor de riesgo para muerte, sin observarse predominio por algún patrón en especial, por lo que este dato, al menos en este estudio nos indica que una alteración pulmonar, cuando se presenta, indica una afección orgánica importante que puede poner en peligro la vida.

Se ha descrito muy poco acerca de los hallazgos radiográficos de los pacientes con influenza en adultos ¹¹⁰. En las series de casos se reportan varios patrones a nivel del parénquima pulmonar por TAC, predominando el vidrio despulido y el patrón intersticial, así como complicaciones radiográficas con bronconeumonía¹¹¹; lo anterior fue visto en muy bajo porcentaje en nuestro estudio. Hasta la fecha, no hay un estudio comparativo entre la radiografía y la TAC con pacientes con influenza; sin embargo en 5 (14%) de los pacientes que se les realizó TAC tenían una radiografía normal del mismo día, lo cual corrobora que ésta es un estudio más sensible.

En este estudio se muestran datos por primera vez acerca de la excreción de este nuevo virus. Dentro de éstos destaca el aislamiento en el muestras respiratorias de todos los pacientes, así como el aislamiento en heces en 4 de los casos y en uno en orina. Sin embargo, hasta el momento no se ha podido demostrar la presencia de receptores de ácido siálico específicos para el virus en los tejidos del tubo digestivo o de la vía urinaria, por lo que se necesitan más estudios para determinar el significado de estos resultados ^{21, 101}.

Gracias a este grupo de excreción viral se pudo observar que entre más temprano se inicia el tratamiento, más rápido disminuye la excreción viral en la vía respiratoria y es menos probable que se encuentre en otros órganos; por ende la probabilidad de contagio a otras personas disminuye, pues la excreción por aerosoles es menor y la excreción en heces y orina no se llevaría a cabo, las cuales pueden ser medios de contaminación probablemente (fecal-oral). Se ha visto en estudios que miden la carga viral, que en cuanto se inicia el tratamiento con oseltamivir, se reduce la carga viral al día siguiente ¹¹²⁻¹¹⁴; en este estudio no se realizó carga viral en plasma.

El mayor tiempo de excreción viral está relacionado con la presencia de comorbilidad ¹¹⁵⁻¹¹⁷, como se observa en este grupo, pues los pacientes que excretaron más tiempo tenían alguna de ellas, siendo la obesidad la única en todos ellos. Ninguno de estos pacientes tenía uso de esteroides, pero podría ser un factor que promueva mayor duración de excreción viral.

Se cree que posterior a las 48 hrs de inicio del cuadro el tratamiento no es tan efectivo en la influenza estacional ¹¹⁸⁻¹¹⁹; sin embargo también se ha visto que el tiempo de ventana terapéutica se debe ampliar en aquellos pacientes con alguna comorbilidad o estado de gravedad, pues se ha demostrado que el dar tratamiento a pesar de acudir tardíamente a la atención médica es muy beneficioso ¹²⁰, por lo que puede aplicarse también a esta infección. La excreción viral de los hospitalizados puede durar más tiempo, por lo que se deben tomar muy bien las medidas de aislamiento y protección para evitar la transmisión del virus ¹²⁰.

Un paciente presentó excreción viral con una duración de aproximadamente 25 días, lo cual fue dado por un falso negativo del primer hisopado nasofaríngeo, muy a principio de la epidemia, con su posterior demostración en un aspirado endotraqueal, lo cual nos reafirma que en una pandemia, todo paciente que tenga un ESI y más cuando éste sea grave, se debe tratar como si tuviera la infección, a pesar de no tener una prueba positiva.

El análisis molecular que se realizó a 15 muestras al azar, se determinó que el virus que infectó a todos los pacientes fue la misma cepa, sin cambios hasta ese momento en sus características, al menos en la HA y la NA. Es interesante mencionar que uno de los pacientes adquirió la infección en Argentina, sin embargo, no hubo diferencias en las características, como se menciona. No se realizaron análisis de sensibilidad del virus, sin embargo no se han reportado en México casos de resistencia a los inhibidores de neuraminidasa, asociada a la mutación H275Y, siendo éstos muy esporádicos aún ⁸¹, pero no hay que olvidar que en la temporada de invierno pudiera predominar alguna de estas cepas resistentes. Es importante realizar un seguimiento mensual de las características génicas de las proteínas víricas, con la finalidad de identificar más rearrreglos y tomar las conductas pertinentes, como dar aviso de ello.

Se han correlacionado significativamente los títulos del virus de influenza en hisopado nasofaríngeo con la presencia de fiebre y otros síntomas sistémicos¹²¹. En la figura 11 se observa que hay una mayor cantidad de pacientes con carga viral alta (cuantitativa) en los pacientes que acudieron en los primeros 5 días de evolución con síntomas, en comparación con aquellos que llegaron más tardíamente; sin embargo, también se observa que hubo pacientes que llegaron tardíamente y presentaron cargas virales altas, lo cual es de esperarse en aquellos pacientes que inician el tratamiento posterior a las 24 hrs, como se ha reportado en aquellos infectados por influenza estacional¹²².

La carga viral media de los pacientes infectados fue de $3.95 \log^{10}$ y conforme pasan los días ésta disminuye el 0.11 de la carga viral por día transcurrido, lo cual no se ha descrito previamente y puede estar relacionado a la presentación aguda de la enfermedad con una alta replicación viral que posteriormente, conforme pasan los días, dicha carga viral va disminuyendo. Sin embargo, antes de que la carga viral pueda ser utilizado como un marcador subrogado de la gravedad de la enfermedad o efectividad del tratamiento antiviral se requieren más estudios prospectivos con pacientes tratados y no tratados, así como graves y ambulatorios, y la medición de otros marcadores, como los niveles de citocinas, para predecir el desenlace clínico.

CONCLUSIONES

Las características clínicas asociadas a una mayor probabilidad de hospitalización en esta población fueron obesidad, un índice de Charlson de 1 y taquipnea >30.

La mortalidad en esta cohorte fue del 4.8%.

Los factores asociados a muerte fueron comorbilidad preexistente, obesidad, tiempo de evolución mayor a 3 días antes de atención médica y los datos de mayor afección respiratoria previa (taquipnea >30 y relación PaO₂/FiO₂ baja).

En el estudio histopatológico, las características más notables fueron la afección pulmonar y como hallazgo, eritrofagocitosis.

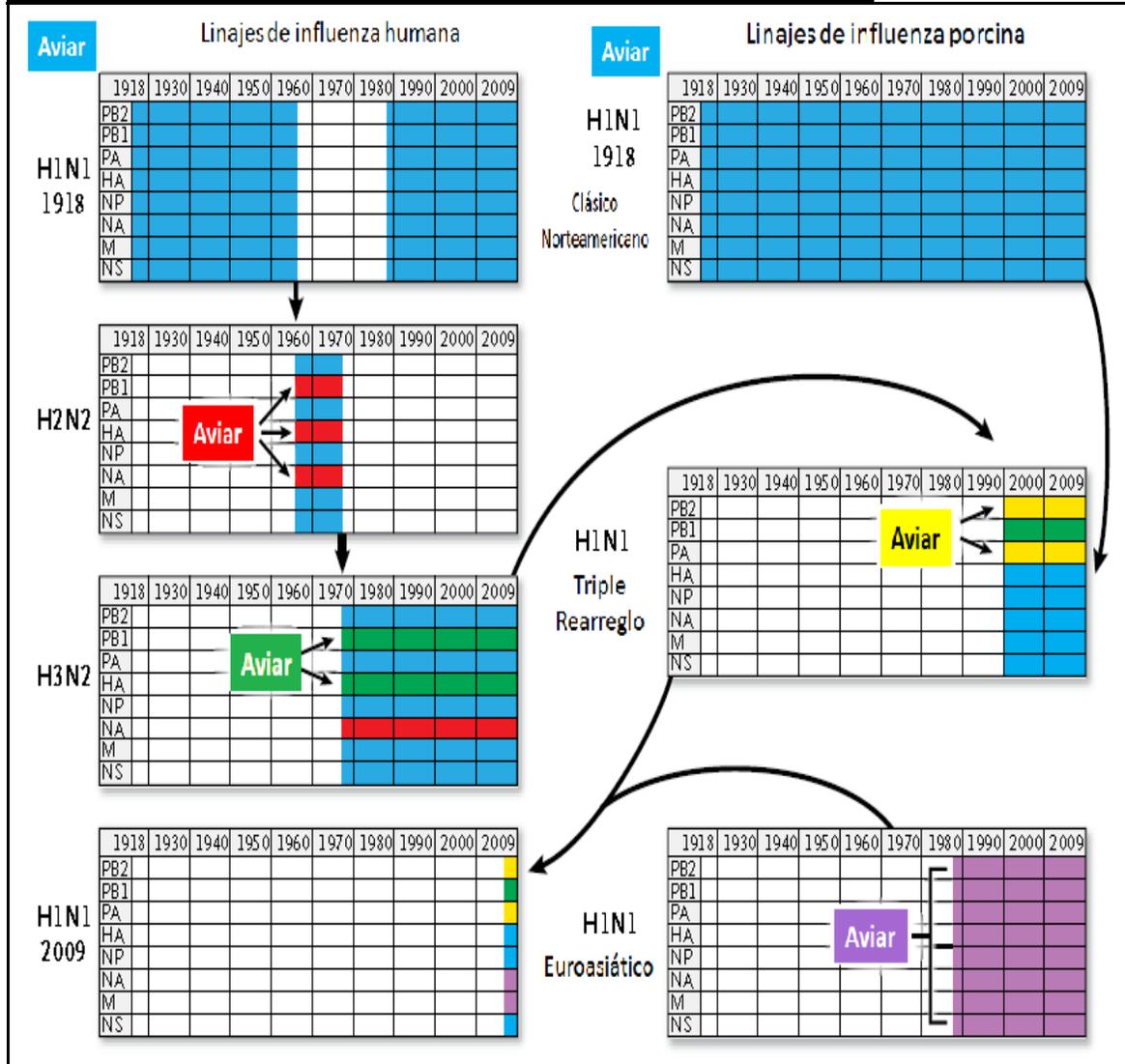
El tiempo de excreción viral fue más prolongado en aquellos pacientes que requirieron hospitalización. En este grupo de pacientes, se obtuvieron aislamientos de muestras no respiratorias (heces y orina).

No se encontraron diferencias en la secuencia de los segmentos del gen de hemaglutinina y neuraminidasa amplificados en este grupo de aislamientos.

La carga viral es mayor al inicio de la enfermedad y va disminuyendo conforme pasan los días de inicio de síntomas.

ANEXOS

Anexo 1. Historia de linajes de influenza humana y porcina.



El diagrama muestra la historia genética completa del virus de influenza A H1N1 (S-OIV). Cada una de las 7 tablas representa la composición génica de un virus de influenza en particular en el tiempo. Los segmentos génicos se muestran en el eje de las ordenadas y las fechas en el eje de las abscisas. El color designa al virus de influenza aviar y su comportamiento en el linaje de cada uno de los virus. Se muestran tanto los virus H1N1, como H2N2 y H3N2. El actual virus se muestra en la parte inferior izquierda.

Anexo 2: Toma y recolección de hisopado nasofaríngeo

Hisopado nasal:

1.- Insertar un hisopo seco de poliéster o dacrón en cada una de las fosas paralelamente al paladar colocando la cabeza del paciente a 45°. Mantenerlo inmóvil por unos segundos y retirarlo suavemente realizando un movimiento rotatorio.

2.- Introducir cada uno de los hisopos en el tubo que contiene el medio de transporte viral (2-3 ml) y cortar la varilla para que sólo quede la porción adherida al hisopo dentro del tubo. Cerrar el tubo con la tapa de rosca. Los hisopos siempre deben mantenerse húmedos.

3.- Mantener los medios de transporte a 4°C.



Figura de Anexo 2: Observe cómo se introduce el hisopo teniendo la cabeza inclinada hacia la parte posterior a 45°. La introducción del hisopo es en línea recta.

Anexo 3. Determinación de Influenza A H1N1 en muestras de hisopado nasofaríngeo por técnica rRT-PCR

Protocolo de extracción de ácidos nucleicos

Recolección de la Muestra (Área 1)

Especímenes Aceptables

Los especímenes respiratorios incluyen lavado broncoalveolar, aspirado traqueal, esputo, lavados o aspirados nasofaríngeos u orofaríngeos, e hisopados nasofaríngeos u orofaríngeos. Los hisopados deben ser colectados sólo con hisopos con punta sintética (tales como poliéster o dacrón) y vástago de aluminio o plástico. No se recomiendan los hisopos con punta de algodón y vástago de madera. Los especímenes colectados con hisopos con punta de alginato de calcio no son aceptables.

Criterios de Exclusión: Especímenes no mantenidos a 2-4°C (≤ 4 días) o congelados a -70°C ó menos.

Tipo de Muestra

Los hisopados nasofaríngeos u orofaríngeos deben estar contenidos en 3 mililitros de medio de transporte para virus respiratorios (MTV).

Los lavados o aspirados deben ser de colección reciente en recipiente estéril, por lo menos 5 mililitros.

Identificación de la Muestra

La muestra debe estar perfectamente identificada, conteniendo en la etiqueta nombre completo del paciente, número de registro (si lo tiene), fecha de la toma y ubicación del paciente o del médico, acompañada de una solicitud de estudio.

Material y Equipo

- Campana de Seguridad Biológica
- Centrífuga (1,000 a 3,000 rpm)
- Tubos estériles libres de nucleasas de 1.5 ml
- Jeringas estériles de 5 ml
- Filtros estériles con membrana de 0.45µm
- Pinzas
- Recipiente con hipoclorito de sodio al 0.05%
- Guantes
- Cubrebocas de alta eficiencia
- Batas quirúrgicas

Separación de la muestra

1. Se agita vigorosamente el tubo con el hisopo dentro para descargar la muestra en el medio.
2. Se exprime el hisopo sobre la pared del tubo y se desecha en el recipiente con hipoclorito de sodio al 0.05%.
3. El tubo se agita en vórtex para deshacer moco
4. Se centrifuga a 1,500 rpm, a 18°C durante 10 minutos para sedimentar células.
5. Se toman 2 ml del sobrenadante con una jeringa y se pasan por un filtro de 0.45µm, separándose en dos alícuotas de 1 ml cada una en tubos de 1.5 y se congelan para cultivo posterior.
6. El sedimento celular se resuspende en el medio remanente. Se separan 300 µl para su lisis posterior en otro tubo de 1.5 ml. El resto se congela a -70°C.

Extracción (Área 2)

Para la extracción se utiliza el sistema automatizado NucliSENS easyMAG (BioMerieux, Holanda).

Material y Equipo

- Equipo de extracción NucliSens easyMAG
- Pipetas de transferencia
- Puntas con filtro de 20-200 µl
- Micropipeta de 20-200 µl
- Tubos estériles libres de nucleasas de 1.5 ml
- Tubos estériles libres de nucleasas de 0.5 ml
- Tubos de poliestireno desechables de 4 ml
- Buffer de lisis Nuclisens
- Sílica magnética MagSIL Nuclisens
- Proteinasa K ≥20 Units/mg
- H₂O libre de DNAsas y RNAsas
- Guantes desechables libres de talco y polvo

Pre-tratamiento

7. Adicionar 25 µl de proteinasa K al tubo con la muestra para lisis, homogenizar.
8. Incubar 15 min a 55 °C.

Extracción

9. Adicionar la muestra tratada con proteinasa K a 2 ml de buffer de lisis NucliSens, homogenizar.
10. Incubar 10 minutos a temperatura ambiente, homogenizar.
11. Transferir la muestra lisada a los contenedores del equipo NucliSens easyMAG y adicionar 100 µl de sílica magnética MagSIL (50 ul de sílica + 50 ul de H₂O libre de DNAsas y RNAsas) a cada muestra, homogenizar.

12. Proceder con la extracción automatizada de acuerdo a las instrucciones del equipo.
13. Eluir los ácidos nucleicos con 60 µl de buffer de elución. Transferir a tubos de 0.5 ml y guardar a -70°C.

RT-PCR en Tiempo Real para identificar Influenza A H1N1

Consideraciones generales

✓ Evitar la contaminación de las muestras

Debido a la sensibilidad del ensayo, se deben tomar precauciones especiales para evitar amplificaciones falsas positivas:

- Mantener áreas separadas para la extracción, preparación de la mezcla de reacción y manejo de ácidos nucleicos.
- Mantener equipo separado y específico para la extracción, preparación de la mezcla de reacción y manejo de ácidos nucleicos (pipetas, microcentrífugas, tubos, puntas).
- Vestir bata de laboratorio, de preferencia desechable, en cada área. No ingresar al área de preparación de mezcla de reacción con vestimenta usada en las áreas de extracción y manejo de ácidos nucleicos.
- Utilizar guantes desechables. Cambiarlos al salir de cada área y cada vez que exista posibilidad de haber sido contaminados.
- Mantener los reactivos y tubos de reacción tapados tanto como sea posible.
- Utilizar siempre puntas con filtro.

✓ Preparación del equipo

Limpiar y descontaminar las áreas de trabajo, pipetas y centrífugas con una solución de cloro al 5% (pueden usarse reactivos como “DNAzap” o “RNase AWAY”) para minimizar el riesgo de contaminación con ácidos nucleicos.

✓ Preparación de reactivos

Primers y sondas

- Mantener a -20°C . Las sondas pueden mantenerse, en oscuridad, hasta por 3 meses a $2-8^{\circ}\text{C}$.
- Preparar alícuotas de cada sonda y primer. Calcular el volumen a utilizar en cada reacción para evitar volver a congelar las sondas.
- Mantener los primers y sondas siempre en frío durante el ensayo.

Reactivos para PCR en Tiempo Real

- Mantener los reactivos a -20°C .
- Descongelar y mantener los reactivos siempre en frío durante el ensayo.
- Mezclar los reactivos por inversión, nunca agitar con vórtex.

NOTA :

Mantener la placa de 96 pozos en la placa enfriadora durante todo el proceso, desde que se dispensan la mezcla de reacción, las muestras, los controles negativo y positivo, y hasta colocar en el termociclador.

Material y Equipo

- Sistema de detección de PCR en Tiempo Real para tubos o placas de 96 pozos de 0.2 ml
- Vortex
- Microcentrífuga
- Centrífuga de placas
- Guantes desechables libres de talco
- Kit de micropipetas automáticas (4xvol.variable)
- Puntas con filtro (0.5-20, 20-200)
- Tubos estériles libres de nucleasas de 1.5 ml
- Placas ópticas de 0.2 ml
- Tapas ópticas para placas de 0.2 ml
- Placas de enfriamiento para tubos de 1.5 ml y placas de 96 pozos
- SuperScript III Platinum One-Step Quantitative kit
- Primers $40\ \mu\text{M}$
- Sondas marcadas con FAM y BHQ $10\ \mu\text{M}$
- H₂O libre de DNAsas y RNAsas

Primers y sondas

Primer y Sonda	Secuencia (5'>3')
InfA-F	GACCRATCCTGTCACCTCTGAC
InfA-R	AGGGCATTYTGACAAAKCGTCTA
InfA-P	FAM-TGCAGTCCTCGCTCACTGGGCACG-BHQ
swInfA-F	GCACGGTCAGCACTTATYCTRAG
swInfA-R	GTGRGCTGGGTTTTTCATTTGGTC
swInfA-P	FAM-CYACTGCAAGCCCATACACACAAGCAGGCA-BHQ
swH1-F	GTGCTATAAACACCAGCCTYCCA
swH1-R	CGGGATATTCCTTAATCCTGTRGC
swH1-P	FAM-CAGAATATACATCCRGTCACAATTGGARAA
RNP-F	AGATTTGGACCTGCGAGCG
RNP-R	GAGCGGCTGTCTCCACAAGT
RNP-P	FAM-TTCTGACCTGAAGGCTCTGCGCG

Cada muestra es analizada, por separado, con 4 sets de primers y sonda.

Set 1: InfA, primers y sonda universales para Influenza A

Set 2: swInfA, cepas provenientes de cerdo

Set 3: swH1, cepas de cerdo H1

Set 4: RNP, RNasaP, control interno positivo

Condiciones de reacción (Área 3)

1. Mantener todos los reactivos en frío durante la preparación del ensayo.
2. Descongelar los primers, sondas y el vial de 2X Reaction Mix.
3. Mezclar con vórtex los primers y sondas y por inversión la 2X Reaction Mix.
4. Centrifugar los reactivos brevemente y colocarlos en la placa de enfriamiento.
5. Realizar una mezcla de reacción por cada set de primers y sonda.

Mezcla de reacción

Reactivo	Volumen de reactivo por reacción (µl)
H2O libre de nucleasa	5.5
Primer Forward	0.5
Primer Reverso	0.5
Sonda	0.5
SSIII RT/Platinum Taq Mix	0.5
2X PCR Master Mix	12.5
Volumen Total	20.0

6. Mezclar con pipeta. No agitar con vórtex.
7. Centrifugar por 5 seg y colocar la mezcla en la placa enfriadora.
8. Dispensar 20 µl de la mezcla de reacción en cada pozo de la placa de 96. Mantener la placa en frío mientras se dispensa la reacción. Utilizar el siguiente esquema:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	InfA											
B	swInf A											
C	swH1											
D	RNP											
E	InfA											
F	swInf A											
G	swH1											
H	RNP											

9. Adicionar 5 ul de H₂O libre de nucleasa al pozo del control negativo (NTC) y tapar los pozos.
10. Mover la placa al área de manejo de ácidos nucleicos

(Área 4)

11. Adicionar 5 µl del RNA de las muestras a cada reacción. Cambiar la punta para cada pozo. Tapar los pozos cada vez que se termine de adicionar una muestra
12. Mover la placa al área de adición de control positivo. Agregar 5 µl a cada reacción y tapar.

Esquema de distribución de muestras:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	NTC	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11
B	NTC	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11
C	NTC	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11
D	NTC	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11
E	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20	M21	M22	C+
F	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20	M21	M22	C+
G	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20	M21	M22	C+
H	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20	M21	M22	C+

13. Centrifugar la placa a 500 x g por 30 seg. Volver a colocar la placa de reacción en la placa enfriadora
14. Colocar la placa en el equipo de PCR en Tiempo Real.

Condiciones de amplificación (Área 5)

Proceso	Temperatura y Tiempo
Retrotranscripción	50°C 30 min
Activación Platinum Taq	95°C 2 min
Amplificación 45 ciclos	95°C 15 seg 55°C 30 seg

Interpretación de resultados

- Los controles negativos no deben mostrar curvas de fluorescencia por arriba de la línea de reacción de fondo. Si se observa una curva de fluorescencia en cualquiera de las reacciones, puede haber ocurrido una contaminación. Invalidar la corrida y repetir el ensayo. Desechar la alícuota de H₂O. Revisar el procedimiento para determinar la causa de la falla.
- Controles positivos: Todas las reacciones deben ser positivas antes de los 40 ciclos. Si alguna de las reacciones resultara negativa, se invalida la corrida y se repite. Desechar el control positivo y utilizar uno nuevo. Revisar el procedimiento para determinar la causa de la falla.
- Todas las muestras clínicas deben exhibir una curva para RNasaP que indica que la calidad de la muestra es aceptable. Si el resultado es negativo:
 - Bajo número de células en la muestra clínica.
 - Falla en el proceso de extracción. Revisar si existen reacciones positivas en las otras muestras clínicas. Revisar si existen reacciones positivas en las otras 3 reacciones. Reextraer la muestra. Revisar el procedimiento para determinar la causa de la falla.

Si todos los controles cumplen los criterios mencionados, los resultados pueden interpretarse de acuerdo a la siguiente tabla:

InfA (Ct≤40)	swInfA (Ct≤40)	swH1 (Ct≤40)	RNP (Ct<37)	Resultado	Observación
+	+	+	+	Influenza A H1N1	
+	-	+	+	Influenza A H1N1	
+	-	-	+	Influenza A	
-	-	-	+	Negativo	
+	+	-	+	Indeterminada	Repetir rRT-PCR [†]
-	-	-	-	Indeterminada	Repetir la extracción*

[†] Repetir con la misma muestra y en caso de obtener el mismo resultado, secuenciar.

* Repetir reextracción de RNA y rRT-PCR, si el resultado es igual, reportar muestra inválida.

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán
Departamento de Infectología
 Laboratorio de Biología Molecular



Determinación de Influenza A H1N1

Fecha: _____ Placa: _____ Termociclador: _____

Reactivo	Volumen de reactivo por reacción (µl)	x n
H2O libre de nucleasa	5.5	
Primer Forward	0.5	
Primer Reverso	0.5	
Sonda	0.5	
SSIII RT/Platinum Taq Mix	0.5	
2X PCR Master Mix	12.5	
Volumen Total	20.0	
RNA	5	

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	InfA NTC	InfA										
B	swInfA NTC	swInfA										
C	swH1 NTC	swH1										
D	RNP NTC	RNP										
E	InfA	InfA	InfA	InfA	InfA	InfA	InfA	InfA	InfA	InfA	InfA	InfA C+
F	swInfA	swInfA	swInfA	swInfA	swInfA	swInfA	swInfA	swInfA	swInfA	swInfA	swInfA	swInfA C+
G	swH1	swH1	swH1	swH1	swH1	swH1	swH1	swH1	swH1	swH1	swH1	swH1 C+
H	RNP	RNP	RNP	RNP	RNP	RNP	RNP	RNP	RNP	RNP	RNP	RNP C+

Secuenciación

Los productos de rRT-PCR fueron secuenciados mediante un secuenciador automático (Genetic Analyzer 3130xl). Dicha secuenciación se realizó a 15 muestras. La identidad genética de las cepas fue determinada por comparación de las secuencias con cepas del GenBank. Se realizó un dendograma de alineación múltiple usando el software PC:GENE.

Anexo 3. Instrumento de evaluación

VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA DE INFECCIÓN POR INFLUENZA

Reporte de enfermedad respiratoria aguda grave ADULTOS

Datos demográficos

Nombre y apellidos: _____

Edad (años cumplidos): _____ Género: 1) Masculino 2) Femenino

Ocupación _____ Peso _____ kg

Número de expediente _____ y/o teléfono para contacto: _____

Domicilio _____

Delegación _____ Ciudad _____ Estado _____

Hospital donde se le está atendiendo _____

Sitio de atención: Consulta de Urg _____ Hosp de Urgencias _____ UTI _____ Piso _____

Transmisión

En la última semana, ¿ha tenido contacto con alguna persona que haya padecido alguna enfermedad respiratoria? 1) No 2) Si → edad(es): _____ años cumplidos _____ años cumplidos

Parentesco 1) _____ 1) _____ 1) Lugar 1) _____ 1) _____

En la semana previa a su padecimiento, ¿ha tenido contacto con? : 1) Si 2) No

1) Personal de Salud 2) Personal de Guarderías 3) Personal de Asilos 4) Granjeros

En la semana previa a su padecimiento, ¿ha acudido a alguno de los siguientes sitios?: 1) Si 2) No

1) Hospital 1) _____ 1) 2) Guardería 1) _____ 1)

3) Asilo 1) _____ 1) 3) Granjas 1) _____ 1)

¿En la última semana ha acudido a **eventos masivos** (congresos, conciertos, eventos de culto)? 1) Si 2) No

¿Cuál(es)? 1) _____ 1) ¿Dónde? 1) _____ 1)

¿En la última semana ha tenido contacto con animales? 1) Si 2) No Tipo 1) _____ 1)

Tuvo contacto con alguna persona dx con influenza 1) Si 2) No No. días antes de inicio de Sx 1) _____ 1)

Número total de personas que habitan en su domicilio: _____

¿Ha realizado algún viaje en el último mes?

1) Si 2) No Lugar 1) _____ 1) Fechas 1) _____ 1) a 1) _____ 1)

En la última semana, ¿ha tenido contacto con niños entre 2 y 5 años?: 1) Sí 2) No Número 1) _____ 1)

En los últimos años, ¿recibió la vacuna contra influenza? → 2006 1) Si 2) No

2007 1) Si 2) No

2008 1) Si 2) No

Descripción Clínica, Epidemiológica y Viroológica de la Infección por el Virus de Influenza A H1N1 O-P en Dos Hospitales del Sur de la Ciudad de México

Signos vitales de ingreso:

FC l____l FR l____l TA l____/____l T° C l____l Saturación l____l

Glasgow a su ingreso l____l Choque 1) Si 2) No Aminas 1) Si 2) No

Apoyo ventilatorio 1) Si 2) No

Oxígeno suplementario (Puntas nasales, Puritan o bolsa reservorio) l____l días l____l

Ventilación mecánica NO invasiva (BiPap, CPap) l____l días l____l

Ventilación mecánica invasiva (oro traqueal) l____l días l____l

Laboratorios 1) Sí 2) No

Gasometría arterial pH l____l paO₂ l____l paCO₂ l____l HCO₃ l____l FiO₂ l____l Sat l____l

BH Hb l____l Hematocrito l____l Leucocitos l____l N l____l L l____l M l____l Plaquetas l____l

QS Glc l____l BUN l____l Creat l____l Na l____l K l____l CPK l____l TP l____l INR l____l

PFH BT l____l BD l____l ALT l____l AST l____l Fosfatasa Alcalina l____l Albúmina l____l

Imagenología

Sin Imágenes l____l Rx tórax l____l TAC tórax l____l 1) Normal 2) Anormal (si anormal, **especifique**)

a) Infiltrado alveolar único b) Infiltrado alveolar múltiple

c) Infiltrado Intersticial d) Infiltrado micronodular e) Derrame pleural

Tratamiento otorgado (señale si le dieron alguno de los siguientes y escriba el nombre. Puede ser uno o más de uno):

Antibiótico 1 l____l Fecha de inicio l____l l____l

Antibiótico 2 l____l Fecha de inicio l____l l____l

Antiviral 1 l____l Fecha de inicio l____l l____l

Evolución y Complicaciones

Número de días hospitalizado l____l

Muerte: 1) Si 2) No Fecha l____l l____l

Necropsia 1) Si 2) No Dx l____l

Durante **ESTE** evento el paciente ha desarrollado Exacerbación de EPOC l____l Neumonía l____l

Infarto agudo al miocardio l____l Insuficiencia Cardíaca l____l Empeoramiento de insuficiencia cardíaca l____l Evento vascular cerebral l____l Encefalopatía l____l Miopatía l____l

Insuficiencia Renal Aguda l____l Coagulopatía l____l

Aislamientos microbiológicos 1) Si 2) No Muestra l____l Aislamiento l____l

Se realizó hisopado nasofaríngeo: 1) No 2) Si

Toma: Fecha: |__|_|-|____|-2009 Hora l____:____l No. Muestra l____l

Nombre, firma y fecha de la persona que recolecta esta información:

Fecha l____l l____l 2009

Anexo 5. Definiciones

Ácido nucleico: Compuesto polimérico de alto peso molecular, compuesto por nucleótidos, cada uno de ellos formado por una base purínica o pirimidínica, un azúcar (ribosa o desoxirribosa) y un grupo fosfato.

Ácido ribonucleico (ARN): Ácido nucleico presente tanto en el núcleo como en el citoplasma de las células, que transmite instrucciones genéticas desde el núcleo al citoplasma. Interviene en la síntesis de proteínas.

Ácido desoxiribonucleico (ADN): Ácido nucleico que se encuentra principalmente en el núcleo celular; es portador de la información genética.

Alteración del estado de conciencia: Toda situación en la que el nivel de conciencia difiere de la normalidad.

Antígeno: Sustancia generalmente proteica, que da lugar a la síntesis de un anticuerpo y reacciona específicamente con el mismo.

Arritmia: Ausencia de ritmo en el latido cardíaco.

Artralgias: Dolor en las articulaciones.

Asma: Trastorno respiratorio caracterizado por episodios recurrentes de disnea paroxística, con sibilancias espiratorias motivadas por constricción bronquial, tos y secreciones mucosas bronquiales de consistencia viscosa.

Astenia: Ausencia o disminución de fuerza o de energía; debilidad.

Cardiopatía: Alteración o enfermedad del corazón.

Catarro: Inflamación de las mucosas con supuración, especialmente en las vías aéreas, nasal y traqueal.

Cefalea: Dolor de cabeza.

Cirrosis: Definición histopatológica que denota que las células que constituyen un órgano son substituídas por material fibrótico del propio órgano.

Coinfección: Infección agregada a otra ya conocida.

Comorbilidad: Coexistencia de dos o más patologías médicas o procesos patológicos no relacionados.

Consciencia: Conocimiento inmediato que el sujeto tiene de sí mismo, de sus actos y reflexiones.

Conjuntivitis: Inflamación de la conjuntiva.

Contacto: Persona que ha estado expuesta a una enfermedad infecciosa.

Convulsión: Serie brusca, violenta e involuntaria de contracciones de un grupo de músculos.

Coriza: Inflamación de la mucosa de la nariz, junto con tumefacción de la misma y secreción nasal.

Daño Pulmonar Agudo (DPA): Síndrome de inflamación aguda del pulmón que se caracteriza por un incremento en la permeabilidad capilar. Debe contar con las siguientes características: Inicio abrupto, infiltrados pulmonares con imagen de edema y una PaO_2FiO_2 entre 201-300 mmHg.

Dendograma: Representación diagramática de un árbol filogenético.

Desnutrición: Estado patológico provocado por la falta de ingesta o absorción de alimentos o por estados de exceso de gasto metabólico.

Diabetes mellitus (DM): pacientes con dos determinaciones de glucemia >126 mg/dl en ayuno o una mayor de 200 mg/dl al azar y síntomas asociados.

Diarrea: Evacuaciones con un peso > 200 gr en 24 hrs, 3 o más evacuaciones con disminución de la consistencia ó 1 o más evacuaciones con sangre.

Disnea: Falta de aliento o dificultad para respirar.

Edad: Años de vida cronológica.

Embarazo: Período de tiempo que transcurre entre la fecundación del óvulo por el espermatozoide y el momento del parto. Comprende todos los procesos fisiológicos de crecimiento y desarrollo del feto en el interior del útero materno, así como los importantes cambios fisiológicos, metabólicos e incluso morfológicos que se producen en la mujer encaminados a proteger, nutrir y permitir el desarrollo del feto, como la interrupción de los ciclos menstruales, o el aumento del tamaño de las mamas para preparar la lactancia.

Endemia: Enfermedad que predomina habitualmente, o en épocas fijas, en un país o comarca.

Enfermedad similar a influenza: Presencia de al menos un síntoma respiratorio (rinorrea, odinofagia, tos, expectoración, disnea, conjuntivitis) y un síntoma sistémico (fiebre, cefalea, mialgias, artralgias, fatiga).

Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC): Enfermedad caracterizada por la presencia de obstrucción crónica y poco reversible del flujo aéreo pulmonar.

Epidemia: Enfermedad que se propaga durante algún tiempo por un país, infectando simultáneamente a gran número de personas.

Epistaxis: Hemorragia procedente de la nariz.

Estornudo: Expulsión brusca, potente e involuntaria de aire a través de la nariz y de la boca que se produce a consecuencia de la irritación de la mucosa de las vías respiratorias altas.

Evento Vascular Cerebral (EVC): Conjunto de trastornos de la vasculatura cerebral que conllevan a una disminución en el flujo del cerebro con la consecuente afectación, de forma transitoria o permanente, de la función de una región generalizada del cerebro o de una zona pequeña o focal.

Expectoración: Expulsión de moco, esputo o líquidos desde la tráquea o pulmones por medio de la tos.

Extubación: Retirar el tubo orotraqueal cuando se ofrece ventilación mecánica.

Fiebre: Presencia de temperatura de $>38.3^{\circ}\text{C}$ en una sola toma, o la presencia de temperatura $>38.0^{\circ}\text{C}$ durante más de una hora.

Género: Conjunto de seres que tienen uno o varios caracteres comunes.

Hipertensión Arterial Sistémica (HAS): Dos determinaciones de la tensión arterial por arriba de 140 / 90.

Hisopo: Palillo recubierto de algodón en su(s) punta(s).

Hisopado nasofaríngeo: Técnica para la obtención de células del epitelio respiratorio a nivel nasofaríngeo, cuya finalidad es la detección de partículas virales.

Hepatopatía: Daño o afección en la función hepática.

Hipoxemia: Déficit anormal de oxígeno en la sangre arterial (<60 mmHg).

Índice de Charlson: Índice que predice la mortalidad a un año para un paciente que puede tener varias condiciones comórbidas como enfermedad cardíaca, SIDA o cáncer (para un total de 22 condiciones).

Índice de masa corporal: Medida de asociación entre el peso y la talla al cuadrado de un individuo.

Índice tabáquico: Fórmula en donde en el numerador se anota el número de cigarrillos fumados en un día, por años del consumo, y en el denominador aparece el número 20, que corresponde al número de cigarrillos que tiene una cajetilla.

Influenza: Enfermedad causada por un virus ARN que afecta mamíferos y aves, causante de enfermedad en el tracto respiratorio.

Inmunocompetencia: Estado normal del sistema inmunológico, que se traduce en resistencia a las infecciones.

Inmunocompromiso: Condición patológica en la que el sistema inmunológico juega un papel importante ya sea por exceso o deficiencia de su función.

Inmunofluorescencia: Técnica utilizada para identificar rápidamente un antígeno, exponiéndolo a anticuerpos conocidos, marcados con fluoresceína, y observando la característica reacción de precipitación antígeno-anticuerpo.

Insuficiencia renal crónica (IRC): Daño renal, por laboratorio o imagen, o disminución de la tasa de filtrado glomerular a $<60 \text{ ml/min/1.73 m}^2$ por 3 o más meses.

Insuficiencia cardiaca congestiva (ICC): Síndrome fisiológico, que causa la incapacidad que tiene el corazón de llenar o bombear sangre en los volúmenes adecuados para satisfacer las demandas del organismo

Leucopenia: Disminución en el número de las células de la serie blanca, por debajo de 4500 c/mm^3 .

Leucocitosis: Aumento en el número de las células de la serie blanca, arriba de $10,000 \text{ c/mm}^3$.

Lugar de residencia: Entidad federativa donde habita el paciente.

Lupus eritematoso generalizado (LEG): Enfermedad inflamatoria crónica de causa desconocida que puede afectar las articulaciones, piel, riñón, pulmón, sistema membranas mucosas.

Náusea: Sensación que frecuentemente conduce al vómito.

Necropsia: Examen *posmortem* que se realiza para confirmar o para determinar la causa de la muerte.

Medio de transporte viral: Medio líquido hecho a base de Solución Base de Hank 10x, bicarbonato de sodio (sol. 7.5%), albúmina bovina (sol. 7.5%), Penicilina/Estreptomina ($100\text{U/ml}/100\mu\text{g/ml}$) y Agua desionizada.

Mialgias: Dolor en los músculos.

Muerte: Defunción por cualquier causa.

Neoplasia: Multiplicación o crecimiento anormal de células en un tejido del organismo.

Neumococo: Relativo o relacionado al *Streptococco pneumoniae*.

Nivel de Bioseguridad 1: En este nivel se trabaja con agentes que presentan un peligro mínimo para el personal del laboratorio y para el ambiente. El acceso al laboratorio no es restringido y el trabajo se realiza por lo regular en mesas estándar de laboratorio. En este nivel no se requiere equipo especial ni tampoco un diseño específico de las instalaciones. El personal de estos laboratorios es generalmente supervisado por un científico con entrenamiento en microbiología.

Nivel de Bioseguridad 2:

Es similar al nivel 1 y en él se manejan agentes de peligro moderado hacia el personal y el ambiente, pero difiere del nivel 1 en las siguientes características:

- a) El personal de laboratorio tiene entrenamiento específico en el manejo de agentes patógenos
- b) El acceso al laboratorio es restringido cuando se está realizando algún trabajo
- c) Se toman precauciones extremas con instrumentos punzocortantes contaminados
- d) Ciertos procedimientos en los cuales pueden salpicar los agentes o aerosoles se llevan a cabo en gabinetes de trabajo biológico

Nivel de Bioseguridad 3:

Este nivel es el que se encuentra en los laboratorios clínicos, de diagnóstico, algunos laboratorios universitarios y también de investigación, en el cual se realiza trabajo con agentes exóticos o que pueden causar un daño serio y potencialmente mortal como resultado de la inhalación o exposición a los mismos. El laboratorio cuenta con un diseño y con características especiales y todos los materiales son manipulados utilizando vestimenta y equipo de protección, con las siguientes características

- a) Ventilar el aire del laboratorio al exterior
- b) La ventilación del laboratorio se tiene que hacer con un flujo de aire direccional controlado
- c) El acceso al laboratorio está restringido
- d) Seguir el estándar de prácticas microbiológicas y equipamiento de seguridad impuesto para el nivel de bioseguridad 2.

Obesidad: Enfermedad en la cual las reservas naturales de energía, almacenadas en el tejido adiposo de los humanos y otros mamíferos, se incrementa hasta un punto donde está asociado con ciertas condiciones de salud o un incremento de la mortalidad: Se define por un índice de masa corporal igual o mayor a 30.

Odinofagia: Dolor de garganta.

Pandemia: Enfermedad epidémica que se extiende a muchos países o que ataca a casi todos los individuos de una localidad o región.

Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR): Técnica biológica cuyo objetivo es tener un gran número de copias de un fragmento de ARN particular, partiendo de un mínimo.

Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real (RT-PCR): Variante de la PCR convencional, utilizada para amplificar y simultáneamente cuantificar de forma absoluta el producto de la amplificación de ARN

Rearreglo genético: Intercambio de material genético entre dos virus similares cuando infectan a una misma célula.

Rinorrea: Secreción de una fina mucosidad nasal.

Saturación de oxígeno: Fracción de hemoglobina total en forma de HbO₂ a una PaO₂ definida.

Serología: Estudio del suero sanguíneo para detectar evidencias de infección mediante la evaluación de las reacciones antígeno-anticuerpo *in vitro*.

Sibilancia: Forma de *roncus* caracterizado por un tono musical agudo.

Síndrome de Insuficiencia Respiratoria Aguda (SIRA): Síndrome de inflamación aguda del pulmón que se caracteriza por un incremento en la permeabilidad capilar (primaria o secundaria). Debe contar con las siguientes características: Inicio abrupto, infiltrados pulmonares con imagen de edema y una PaO₂FiO₂ entre <200 mmHg.

Sobrepeso: Indica un exceso de peso en relación con la estatura. Implica un índice de masa corporal igual o superior a 25.

SOFA (Evaluación Secuencial de Falla Orgánica): Índice que se utiliza para determinar el estado de gravedad de un paciente, generalmente a la entrada a una unidad de cuidados intensivos.

Tabaquismo: Intoxicación crónica producida por el humo del tabaco.

Tensión arterial media: Media aritmética de la presión sanguínea en la zona arterial de la circulación. Se obtiene al multiplicar dos veces el valor de la presión diastólica y sumar la presión sistólica y dividirlo entre tres.

Tos: Expulsión súbita, sonora, de aire procedente de los pulmones.

Vacuna: Virus o principio orgánico que convenientemente preparado se inocula a una persona o a un animal para preservarlos de una enfermedad determinada.

Ventilación mecánica: Soporte respiratorio por medios manuales o mecánicos cuando la respiración normal es ineficaz o se ha detenido.

Virión: Partícula viral morfológicamente completa e infecciosa.

Virus: Organismo de estructura muy sencilla, compuesto de proteínas y ácidos nucleicos, y capaz de reproducirse solo en el seno de células vivas específicas, utilizando su metabolismo.

Virus de influenza: ARN virus causante de la enfermedad de influenza.

Virus de inmunodeficiencia humana: Tipo de retrovirus causante de depleción de linfocitos CD4+.

Vómito: Material expulsado procedente del estómago al vomitar.

REFERENCIAS

1. Stuart-Harris C. Epidemiology of influenza in man. *Br Med Bull* 1979;35:3-8.
2. de Paiva TM, Ishida MA, Hanashiro KA, et al. Outbreak of influenza type A (H1N1) in Iporanga, Sao Paulo State, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2001;43:311-5.
3. WHO influenza surveillance. *Wkly Epidemiol Rec* 1996;71:353-7.
4. Chang LY, Shih SR, Shao PL, Huang DT, Huang LM. Novel Swine-origin Influenza Virus A (H1N1): The First Pandemic of the 21st Century. *J Formos Med Assoc* 2009;108:526-32.
5. Luk J, Gross P, Thompson WW. Observations on mortality during the 1918 influenza pandemic. *Clin Infect Dis* 2001;33:1375-8.
6. Hsieh YC, Wu TZ, Liu DP, et al. Influenza pandemics: past, present and future. *J Formos Med Assoc* 2006;105:1-6.
7. Taubenberger JK, Morens DM. The pathology of influenza virus infections. *Annu Rev Pathol* 2008;3:499-522.
8. Monto AS. Epidemiology of influenza. *Vaccine* 2008;26 Suppl 4:D45-8.
9. Monto AS, Johnson KM. A community study of respiratory infections in the tropics. I. Description of the community and observations on the activity of certain respiratory agents. *Am J Epidemiol* 1967;86:78-92.
10. Chiu SS, Lau YL, Chan KH, Wong WH, Peiris JS. Influenza-related hospitalizations among children in Hong Kong. *N Engl J Med* 2002;347:2097-103.
11. Ng TP, Pwee KH, Niti M, Goh LG. Influenza in Singapore: assessing the burden of illness in the community. *Ann Acad Med Singapore* 2002;31:182-8.
12. Española RadLL. *Diccionario Madrid*; 2009.
13. Beveridge WI. The start of pandemics: site, season and spread. *Dev Biol Stand* 1977;39:443-4.
14. Simonsen L. The global impact of influenza on morbidity and mortality. *Vaccine* 1999;17 Suppl 1:S3-10.
15. Potter CW. A history of influenza. *J Appl Microbiol* 2001;91:572-9.
16. Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, Chambers TM, Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol Rev* 1992;56:152-79.
17. Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE, Dolin R. *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. 6th ed. Philadelphia, PA: Elsevier/Churchill Livingstone; 2005.
18. Kamps BS. Influenza Report 2006. In: Kamps BS, ed.: *Flying Publisher*; 2006.
19. Lee CW SY. Avian influenza virus. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2009;32:301-10.
20. Schauer R. Achievements and challenges of sialic acid research. *Glycoconj J* 2000;17:485-99.
21. Nicholls JM, Chan RW, Russell RJ, Air GM, Peiris JS. Evolving complexities of influenza virus and its receptors. *Trends Microbiol* 2008;16:149-57.
22. Harduin-Lepers A, Mollicone R, Delannoy P, Oriol R. The animal sialyltransferases and sialyltransferase-related genes: a phylogenetic approach. *Glycobiology* 2005;15:805-17

23. Rogers GN, Paulson JC. Receptor determinants of human and animal influenza virus isolates: differences in receptor specificity of the H3 hemagglutinin based on species of origin. *Virology* 1983;127:361-73.
24. Goto H, Kawaoka Y. A novel mechanism for the acquisition of virulence by a human influenza A virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:10224-8.
25. Betakova T. M2 protein-a proton channel of influenza A virus. *Curr Pharm Des* 2007;13:3231-5.
26. Wagner R, Matrosovich M, Klenk HD. Functional balance between haemagglutinin and neuraminidase in influenza virus infections. *Rev Med Virol* 2002;12:159-66.
27. Wilson IA, Cox NJ. Structural basis of immune recognition of influenza virus hemagglutinin. *Annu Rev Immunol* 1990;8:737-71.
28. Kluska V, Macku M, Mensik J. [Demonstration of antibodies against swine influenza viruses in man.]. *Cesk Pediatr* 1961;16:408-14.
29. Smith TF, Burgert EO, Jr., Dowdle WR, Noble GR, Campbell RJ, Van Scoy RE. Isolation of swine influenza virus from autopsy lung tissue of man. *N Engl J Med* 1976;294:708-10.
30. Gray GC, McCarthy T, Capuano AW, Setterquist SF, Olsen CW, Alavanja MC. Swine workers and swine influenza virus infections. *Emerg Infect Dis* 2007;13:1871-8.
31. Wells DL, Hopfensperger DJ, Arden NH, et al. Swine influenza virus infections. Transmission from ill pigs to humans at a Wisconsin agricultural fair and subsequent probable person-to-person transmission. *JAMA* 1991;265:478-81.
32. Nardelli L, Pascucci S, Gualandi GL, Loda P. Outbreaks of classical swine influenza in Italy in 1976. *Zentralbl Veterinarmed B* 1978;25:853-7.
33. Pensaert M, Ottis K, Vandeputte J, Kaplan MM, Bachmann PA. Evidence for the natural transmission of influenza A virus from wild ducts to swine and its potential importance for man. *Bull World Health Organ* 1981;59:75-8.
34. Scholtissek C, Burger H, Bachmann PA, Hannoun C. Genetic relatedness of hemagglutinins of the H1 subtype of influenza A viruses isolated from swine and birds. *Virology* 1983;129:521-3.
35. Campitelli L, Donatelli I, Foni E, et al. Continued evolution of H1N1 and H3N2 influenza viruses in pigs in Italy. *Virology* 1997;232:310-8.
36. Olsen CW. The emergence of novel swine influenza viruses in North America. *Virus Res* 2002;85:199-210.
37. Vincent AL, Lager KM, Ma W, et al. Evaluation of hemagglutinin subtype 1 swine influenza viruses from the United States. *Vet Microbiol* 2006;118:212-22.
38. Shinde V, Bridges CB, Uyeki TM, et al. Triple-reassortant swine influenza A (H1) in humans in the United States, 2005-2009. *N Engl J Med* 2009;360:2616-25.
39. Vincent AL, Ma W, Lager KM, Janke BH, Richt JA. Swine influenza viruses a North American perspective. *Adv Virus Res* 2008;72:127-54.
40. Dawood FS, Jain S, Finelli L, et al. Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans. *N Engl J Med* 2009;360:2605-15.
41. Garten RJ, Davis CT, Russell CA, et al. Antigenic and genetic characteristics of swine-origin 2009 A(H1N1) influenza viruses circulating in humans. *Science* 2009;325:197-201.
42. Newman AP, Reisdorf E, Beinemann J, et al. Human case of swine influenza A (H1N1) triple reassortant virus infection, Wisconsin. *Emerg Infect Dis* 2008;14:1470-2.

43. Outbreak of swine-origin influenza A (H1N1) virus infection - Mexico, March-April 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2009;58:467-70.
44. Perez-Padilla R, de la Rosa-Zamboni D, Ponce de Leon S, et al. Pneumonia and respiratory failure from swine-origin influenza A (H1N1) in Mexico. *N Engl J Med* 2009;361:680-9.
45. Swine influenza A (H1N1) infection in two children--Southern California, March-April 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2009;58:400-2.
46. Cox NJ, Subbarao K. Influenza. *Lancet* 1999;354:1277-82.
47. Boyd M, Clezy K, Lindley R, Pearce R. Pandemic influenza: clinical issues. *Med J Aust* 2006;185:S44-7.
48. Goodman RA, Orenstein WA, Munro TF, Smith SC, Sikes RK. Impact of influenza A in a nursing home. *JAMA* 1982;247:1451-3.
49. Peltola V, Ziegler T, Ruuskanen O. Influenza A and B virus infections in children. *Clin Infect Dis* 2003;36:299-305.
50. Whitley RJ, Hayden FG, Reisinger KS, et al. Oral oseltamivir treatment of influenza in children. *Pediatr Infect Dis J* 2001;20:127-33.
51. Munoz FM. Influenza virus infection in infancy and early childhood. *Paediatr Respir Rev* 2003;4:99-104.
52. Tsolia MN, Logotheti I, Papadopoulos NG, et al. Impact of influenza infection in healthy children examined as outpatients and their families. *Vaccine* 2006;24:5970-6.
53. Studahl M. Influenza virus and CNS manifestations. *J Clin Virol* 2003;28:225-32.
54. Lahti E, Peltola V, Virkki R, Ruuskanen O. Influenza pneumonia. *Pediatr Infect Dis J* 2006;25:160-4.
55. McCullers JA. Insights into the interaction between influenza virus and pneumococcus. *Clin Microbiol Rev* 2006;19:571-82.
56. Miyashita N, Matsushima T. Chlamydia pneumoniae infection during an influenza virus A epidemic: preliminary report. *J Med Microbiol* 2000;49:391-2.
57. Gerber GJ, Farmer WC, Fulkerson LL. Beta-hemolytic streptococcal pneumonia following influenza. *JAMA* 1978;240:242-3.
58. Boots RJ, Paterson DL, Allworth AM, Faoagali JL. Successful treatment of post-influenza pseudomembranous necrotising bronchial aspergillosis with liposomal amphotericin, inhaled amphotericin B, gamma interferon and GM-CSF. *Thorax* 1999;54:1047-9.
59. Heikkinen T, Thint M, Chonmaitree T. Prevalence of various respiratory viruses in the middle ear during acute otitis media. *N Engl J Med* 1999;340:260-4.
60. Neuzil KM, Zhu Y, Griffin MR, et al. Burden of interpandemic influenza in children younger than 5 years: a 25-year prospective study. *J Infect Dis* 2002;185:147-52.
61. Ozgur SK, Beyazova U, Kemaloglu YK, et al. Effectiveness of inactivated influenza vaccine for prevention of otitis media in children. *Pediatr Infect Dis J* 2006;25:401-4.
62. Belay ED, Bresee JS, Holman RC, Khan AS, Shahriari A, Schonberger LB. Reye's syndrome in the United States from 1981 through 1997. *N Engl J Med* 1999;340:1377-82.
63. Flewett TH, Houlton JG. Influenzal encephalopathy and postinfluenzal encephalitis. *Lancet* 1958;2:11-5.
64. Newland JG, Laurich VM, Rosenquist AW, et al. Neurologic complications in children hospitalized with influenza: characteristics, incidence, and risk factors. *J Pediatr* 2007;150:306-10.

65. Morishima T, Togashi T, Yokota S, et al. Encephalitis and encephalopathy associated with an influenza epidemic in Japan. *Clin Infect Dis* 2002;35:512-7.
66. Bhat N, Wright JG, Broder KR, et al. Influenza-associated deaths among children in the United States, 2003-2004. *N Engl J Med* 2005;353:2559-67.
67. Hu JJ, Kao CL, Lee PI, et al. Clinical features of influenza A and B in children and association with myositis. *J Microbiol Immunol Infect* 2004;37:95-8.
68. Lundberg A. Myalgia cruris epidemica. *Acta Paediatr* 1957;46:18-31.
69. Batra AS, Lewis AB. Acute myocarditis. *Curr Opin Pediatr* 2001;13:234-9.
70. Monto AS, Gravenstein S, Elliott M, Colopy M, Schweinle J. Clinical signs and symptoms predicting influenza infection. *Arch Intern Med* 2000;160:3243-7.
71. Coiras MT, Perez-Brena P, Garcia ML, Casas I. Simultaneous detection of influenza A, B, and C viruses, respiratory syncytial virus, and adenoviruses in clinical samples by multiplex reverse transcription nested-PCR assay. *J Med Virol* 2003;69:132-44.
72. Herrmann B, Larsson C, Zwegyberg BW. Simultaneous detection and typing of influenza viruses A and B by a nested reverse transcription-PCR: comparison to virus isolation and antigen detection by immunofluorescence and optical immunoassay (FLU OIA). *J Clin Microbiol* 2001;39:134-8.
73. Pachucki CT, Khurshid MA, Nawrocki J. Utility of reverse transcriptase PCR for rapid diagnosis of influenza a virus infection and detection of amantadine-resistant influenza a virus isolates. *J Clin Microbiol* 2004;42:2796-8.
74. Beigel JH, Farrar J, Han AM, et al. Avian influenza A (H5N1) infection in humans. *N Engl J Med* 2005;353:1374-85.
75. Treanor JJ. Influenza virus. 6th ed. Philadelphia: Elsevier; 2005.
76. Rowe T, Abernathy RA, Hu-Primmer J, et al. Detection of antibody to avian influenza A (H5N1) virus in human serum by using a combination of serologic assays. *J Clin Microbiol* 1999;37:937-43.
77. Newton DW, Mellen CF, Baxter BD, Atmar RL, Menegus MA. Practical and sensitive screening strategy for detection of influenza virus. *J Clin Microbiol* 2002;40:4353-6.
78. Bardsley-Elliot A, Noble S. Oseltamivir. *Drugs* 1999;58:851-60; discussion 61-2.
79. Update: drug susceptibility of swine-origin influenza A (H1N1) viruses, April 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2009;58:433-5.
80. Gubareva LV, Matrosovich MN, Brenner MK, Bethell RC, Webster RG. Evidence for zanamivir resistance in an immunocompromised child infected with influenza B virus. *J Infect Dis* 1998;178:1257-62.
81. Oseltamivir-Resistant Novel Influenza A (H1N1) Virus Infection in Two Immunosuppressed Patients --- Seattle, Washington, 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2009;58:893-6.
82. Hayden F. Developing new antiviral agents for influenza treatment: what does the future hold? *Clin Infect Dis* 2009;48 Suppl 1:S3-13.
83. Chen Y, Qin K, Wu WL, et al. Broad cross-protection against H5N1 avian influenza virus infection by means of monoclonal antibodies that map to conserved viral epitopes. *J Infect Dis* 2009;199:49-58.
84. Patriarca PA, Arden NH, Koplan JP, Goodman RA. Prevention and control of type A influenza infections in nursing homes. Benefits and costs of four approaches using vaccination and amantadine. *Ann Intern Med* 1987;107:732-40.

85. Ives J, Greenfield S, Parry JM, et al. Healthcare workers' attitudes to working during pandemic influenza: a qualitative study. *BMC Public Health* 2009;9:56.
86. Anantham D, Jagadesan R, Tiew PE. Clinical review: Independent lung ventilation in critical care. *Crit Care* 2005;9:594-600.
87. Noyola DE, Rodriguez-Moreno G, Sanchez-Alvarado J, Martinez-Wagner R, Ochoa-Zavala JR. Viral etiology of lower respiratory tract infections in hospitalized children in Mexico. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23:118-23.
88. Glezen WP, Greenberg SB, Atmar RL, Piedra PA, Couch RB. Impact of respiratory virus infections on persons with chronic underlying conditions. *JAMA* 2000;283:499-505.
89. Michelow IC, Olsen K, Lozano J, et al. Epidemiology and clinical characteristics of community-acquired pneumonia in hospitalized children. *Pediatrics* 2004;113:701-7.
90. Novel H1N1 Flu: Facts and Figures. 2009. (Accessed at <http://www.cdc.gov/h1n1flu/surveillanceqa.htm#8>.)
91. Cohen S, Tyrrell DA, Russell MA, Jarvis MJ, Smith AP. Smoking, alcohol consumption, and susceptibility to the common cold. *Am J Public Health* 1993;83:1277-83.
92. Kark JD, Lebiush M, Rannon L. Cigarette smoking as a risk factor for epidemic a(h1n1) influenza in young men. *N Engl J Med* 1982;307:1042-6.
93. Stojanovich L. Influenza vaccination of patients with systemic lupus erythematosus (SLE) and rheumatoid arthritis (RA). *Clin Dev Immunol* 2006;13:373-5.
94. Ebert TJ, Shankar H, Haake RM. Perioperative considerations for patients with morbid obesity. *Anesthesiol Clin* 2006;24:621-36.
95. Smith AG, Sheridan PA, Harp JB, Beck MA. Diet-induced obese mice have increased mortality and altered immune responses when infected with influenza virus. *J Nutr* 2007;137:1236-43.
96. Bernotiene E, Palmer G, Gabay C. The role of leptin in innate and adaptive immune responses. *Arthritis Res Ther* 2006;8:217.
97. Intensive-care patients with severe novel influenza A (H1N1) virus infection - Michigan, June 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2009;58:749-52.
98. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis* 1987;40:373-83.
99. Rubenfeld GD, Caldwell E, Peabody E, et al. Incidence and outcomes of acute lung injury. *N Engl J Med* 2005;353:1685-93.
100. Garske T, Legrand J, Donnelly CA, et al. Assessing the severity of the novel influenza A/H1N1 pandemic. *BMJ* 2009;339:b2840.
101. Korteweg C, Gu J. Pathology, molecular biology, and pathogenesis of avian influenza A (H5N1) infection in humans. *Am J Pathol* 2008;172:1155-70.
102. Guarner J, Paddock CD, Shieh WJ, et al. Histopathologic and immunohistochemical features of fatal influenza virus infection in children during the 2003-2004 season. *Clin Infect Dis* 2006;43:132-40.
103. Flegal KM, Graubard BI, Williamson DF, Gail MH. Excess deaths associated with underweight, overweight, and obesity. *JAMA* 2005;293:1861-7.
104. Thompson D, Edelsberg J, Colditz GA, Bird AP, Oster G. Lifetime health and economic consequences of obesity. *Arch Intern Med* 1999;159:2177-83.
105. Bercault N, Boulain T, Kuteifan K, Wolf M, Runge I, Fleury JC. Obesity-related excess mortality rate in an adult intensive care unit: A risk-adjusted matched cohort study. *Crit Care Med* 2004;32:998-1003.

106. Steinhauer DA. Role of hemagglutinin cleavage for the pathogenicity of influenza virus. *Virology* 1999;258:1-20.
107. Yeldandi AV, Colby TV. Pathologic features of lung biopsy specimens from influenza pneumonia cases. *Hum Pathol* 1994;25:47-53.
108. Rothberg MB, Haessler SD, Brown RB. Complications of viral influenza. *Am J Med* 2008;121:258-64.
109. Lewis M, Kallenbach J, Ruff P, Zaltzman M, Abramowitz J, Zwi S. Invasive pulmonary aspergillosis complicating influenza A pneumonia in a previously healthy patient. *Chest* 1985;87:691-3.
110. Kim EA, Lee KS, Shim YM, et al. Radiographic and CT findings in complications following pulmonary resection. *Radiographics* 2002;22:67-86.
111. Fujita J, Bando S, Yamaguchi M, Higa F, Tateyama M. Chest CT findings of influenza virus-associated pneumonia in 12 adult patients. *Influenza Other Respi Viruses* 2007;1:183-7.
112. Nicholson KG, Aoki FY, Osterhaus AD, et al. Efficacy and safety of oseltamivir in treatment of acute influenza: a randomised controlled trial. Neuraminidase Inhibitor Flu Treatment Investigator Group. *Lancet* 2000;355:1845-50.
113. Treanor JJ, Hayden FG, Vrooman PS, et al. Efficacy and safety of the oral neuraminidase inhibitor oseltamivir in treating acute influenza: a randomized controlled trial. US Oral Neuraminidase Study Group. *JAMA* 2000;283:1016-24.
114. Baccam P, Beauchemin C, Macken CA, Hayden FG, Perelson AS. Kinetics of influenza A virus infection in humans. *J Virol* 2006;80:7590-9.
115. Fiore AE, Shay DK, Haber P, et al. Prevention and control of influenza. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2007. *MMWR Recomm Rep* 2007;56:1-54.
116. Lee N, Chan PK, Choi KW, et al. Factors associated with early hospital discharge of adult influenza patients. *Antivir Ther* 2007;12:501-8.
117. Lee N, Cockram CS, Chan PK, Hui DS, Choi KW, Sung JJ. Antiviral treatment for patients hospitalized with severe influenza infection may affect clinical outcomes. *Clin Infect Dis* 2008;46:1323-4.
118. Moscona A. Neuraminidase inhibitors for influenza. *N Engl J Med* 2005;353:1363-73.
119. Hayden FG, Treanor JJ, Fritz RS, et al. Use of the oral neuraminidase inhibitor oseltamivir in experimental human influenza: randomized controlled trials for prevention and treatment. *JAMA* 1999;282:1240-6.
120. Lee N, Chan PK, Hui DS, et al. Viral loads and duration of viral shedding in adult patients hospitalized with influenza. *J Infect Dis* 2009;200:492-500.
121. Hayden FG, Fritz R, Lobo MC, Alvord W, Strober W, Straus SE. Local and systemic cytokine responses during experimental human influenza A virus infection. Relation to symptom formation and host defense. *J Clin Invest* 1998;101:643-9.
122. Boivin G, Coulombe Z, Wat C. Quantification of the influenza virus load by real-time polymerase chain reaction in nasopharyngeal swabs of patients treated with oseltamivir. *J Infect Dis* 2003;188:578-80.
123. Zimmer SM, Burke DS. Historical perspective--Emergence of influenza A (H1N1) viruses. *N Engl J Med* 2009;361:279-85.

*Descripción Clínica, Epidemiológica y Viroológica de la Infección por el Virus de
Influenza A H1N1 O-P en Dos Hospitales del Sur de la Ciudad de México*