

ORIGINAL BREVE**INFECCIÓN ASINTOMÁTICA POR EL VIRUS INFLUENZA H1N1(2009)
EN PERSONAL SANITARIO. ESTUDIO MARBEGRIP.
RESULTADOS PRELIMINARES (*)**

Julián Olalla Sierra (1,2), Fernando de Ory Manchón (2,3), Inmaculada Casas Flecha (4), Natalia Montiel Quezel-Guerraz (5), Daniel Salas Bravo (6), y Grupo de Trabajo para el Estudio MARBEGRIP*.

(1) Unidad de Medicina Interna, Hospital Costa del Sol, Marbella

(2) Ciber en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP)

(3) Servicio de Microbiología Diagnóstica, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda

(4) Laboratorio de Gripe y Virus Respiratorios. Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda

(5) Laboratorio de Microbiología, Hospital Costa del Sol, Marbella.

(6) Distrito Sanitario de la Costa del Sol, Málaga

(*) Proyecto financiado por el Instituto de Salud Carlos III a través del CIBER de Epidemiología y Salud Pública. Código del proyecto GR09/0038.

RESUMEN

Fundamento: La proporción de individuos asintomáticos que se infectan por gripe AH1N1v varía según las series. Los sanitarios están expuestos al virus de la gripe AH1N1v por su condición laboral, por lo que cabe esperar una prevalencia elevada de individuos con serología positiva sin presentar cuadro clínico asociado. El objetivo del estudio fue determinar la prevalencia de sanitarios asintomáticos con serología positiva para el virus de la gripe AH1N1v.

Métodos: Se propuso un estudio prospectivo de cohortes en personal hospitalario en función de un hipotético gradiente decreciente de exposición al virus: personal de urgencias, área médica, área quirúrgica y celadores no de urgencias. Se extrajo sangre de los participantes en septiembre-octubre de 2009, noviembre-diciembre de 2009 y en abril-mayo de 2010, junto con la extracción se rellenaba un cuestionario de salud. Se ofreció la participación voluntaria a los miembros de los diferentes servicios. En sangre se procedió a determinar anticuerpos específicos frente al virus de la gripe AH1N1v por medio de inhibición de la hemaglutinación. Participaron 18 hospitales con un total de 1.371 participantes.

Resultados: Se dispone de cuestionario de salud y de resultados serológicos de cuatro hospitales. Se observó una proporción variable de sanitarios asintomáticos con serología positiva sin haber sido vacunados (entre el 5,6% y el 83%). Sólo se vacunaron un 19,4% de los sanitarios, con un porcentaje de serologías positivas también variable (entre un 18,8% y 64,7%). El porcentaje de serologías positivas fue significativamente menor entre los celadores y el resto de categorías profesionales. La vacunación fue mayor entre los médicos que en el resto de estamentos profesionales.

Conclusiones: Existe un porcentaje variable de individuos con serología positiva sin haber sufrido síntomas, con claras diferencias geográficas. Se observan también diferencias en la efectividad vacunal en términos serológicos.

Palabras clave: Gripe. Prevalencia. Personal sanitarios. inhibición de la hemaglutinación.

Correspondencia:

Julián Olalla Sierra

Unidad de Medicina Interna

Hospital Costa del Sol

Carretera Nacional 340, km 187. 29603 Marbella.

Correo electrónico: julio.olalla@gmail.com

ABSTRACT**Asymptomatic Infection by Influenza AH1N1 Virus in Healthcare Workers. MARBEGRIP Study, Preliminary Results**

Background: The proportion of asymptomatic individuals infected by influenza AH1N1v varies depending on the studies. Health personnel were exposed to the AH1N1v virus due to their professional activity, thus an high seroprevalence to the virus could be expected in the absence of symptomatology. The objective of this study was to determine the prevalence of asymptomatic individuals serologically positive for influenza AH1N1v virus.

Methods: A cohort based prospective study on hospital staff was proposed according to an hypothetical decreasing gradient of exposure to the virus, from emergency personnel to medical and surgical areas, and auxiliary staff other than emergency personnel. Serum sample from each participant was taken in September-October, 2009, November-December, 2009, and in April-May, 2010; and a health questionnaire was simultaneously filled out. Specific antibodies against influenza AH1N1v were detected by hemagglutination inhibition test. Eighteen hospitals (1,371 individuals) participated in the study.

Results: Health questionnaire and serological results from four hospitals are available. A variable proportion of non vaccinated individuals showed positive serology (5.6-83%). Only 19.4% of subjects received vaccine, with a variable rate of positive serology (18.8-64.7%). Positive serology was significantly lower in non medical participants. In addition, vaccine coverage was higher in medical personnel than in the rest of professional categories

Conclusions: There was a variable percentage of influenza AH1N1v seropositive individuals who had not suffered clinical symptomatology. This serological study detects differences on vaccine efficacy.

Key words: Human influenza. Prevalence. Health personnel. hemagglutination inhibition.

INTRODUCCIÓN

En junio de 2009 la Organización Mundial de la Salud declaró una pandemia global de gripe por la circulación de un virus de origen porcino AH1N1v¹. Muchos países pusieron en marcha los planes de contención y mitigación de los efectos de una pandemia de gripe que se habían estado elaborando desde la infección por el virus aviar H5N1 de manera esporádica en el ser humano. Estos planes tienen como objetivo apoyar las políticas nacionales de efectividad del uso de los recursos, incluyendo la vacunación como una de estas intervenciones.

En algunas cohortes la prevalencia de síndrome gripal en pacientes con diagnóstico confirmado de gripe AH1N1v alcanzó el 95%, pero en otras, hasta un tercio de los pacientes no sufrieron fiebre². Los fallecimientos por esta gripe se dieron sobre todo en niños menores de un año³, individuos en la edad media de la vida y en grupos de pacientes con factores de riesgo, como embarazo, obesidad, diabetes, inmunosupresión, y enfermedad crónica cardíaca o respiratoria⁴⁻⁶.

Es de esperar que el número de infecciones por gripe durante la evolución de la pandemia haya sido mucho mayor que el de casos confirmados desde el punto de vista microbiológico⁷. En ausencia de estudios de seroprevalencia, el perfil inmunológico de la población se estima mediante tasas de enfermedad definida clínicamente y ajustadas por los grupos de edad y los niveles de exposición como resultado de los diferentes contactos entre esos grupos de edad⁸.

En enero de 2010 se publicaron los primeros resultados obtenidos en el Reino Unido sobre la situación seroepidemiológica midiendo los anticuerpos neutralizantes e inhibidores de la hemaglutinación frente a la gripe AH1N1v detectados en la población general⁹. Comparando la seroprevalencia frente al virus en los momentos anteriores a

la pandemia (finales de 2008), con la obtenida en muestras tomadas en agosto y septiembre de 2009, se observó que en las áreas más pobladas del Reino Unido (Londres, Manchester y Liverpool, y sus áreas metropolitanas) se produjo mayor número de infecciones que en la áreas con menor densidad de población.

De esta manera se confirma la importancia de los estudios seroepidemiológicos para el conocimiento de la epidemiología del virus H1N1(2009), en particular de su capacidad de infectar a una población no expuesta al virus anteriormente. Así, se debe conocer la inmunidad en la población para valorar su progreso, y predecir los cambios que puedan producirse.

Aunque se han aplicado ensayos en fase sólida (inmunoensayo enzimático, inmunofluorescencia) para la determinación de anticuerpos frente a los diferentes virus gripales, algunos de ellos disponibles comercialmente, no existe evidencia suficiente de que puedan sustituir a los ensayos de inhibición de la hemaglutinación (IHA) o de microneutralización (MNt). A pesar de que la técnica de IHA se considera el gold standard para la serología de gripe, recientemente se ha puesto en evidencia que con la técnica de MNt se obtienen títulos más altos, y se confirman más frecuentemente seroconversiones al virus H1N1(2009)¹⁰.

En general, empleando antígenos específicos de cada virus se obtienen respuestas específicas de anticuerpos. No obstante, los distintos subtipos de los virus gripales de tipo A muestran un alto grado de reacción cruzada. Este hecho se ha puesto en evidencia, en lo que se refiere al virus AH1N1v, analizando individuos vacunados con los virus estacionales (A/Solomon Is/3/2006, empleada como componente vacunal para la temporada 2007-08, y la A/Brisbane/59/2007, empleada en la temporada 2008-09), frente al virus H1N1(2009)¹¹. Por esto, para la caracterización inequívoca de la

respuesta inmune específica frente a H1N1(2009) se deben ensayar las muestras simultáneamente frente a los virus H1N1 estacionales componentes de la vacuna anterior a la pandemia que más recientemente han circulado.

Durante los primeros momentos de la circulación del H1N1(2009) los trabajadores sanitarios han podido sufrir una exposición repetida al virus, con diversos grados de gravedad de la enfermedad. La mayor exposición afectaría a los servicios de Urgencias (receptores principales de los pacientes que posteriormente ingresaron, así como de los pacientes con gripe leve o moderada, derivados a Atención Primaria o a domicilio). Un segundo escalón de exposición implicaría a los servicios de Medicina Interna, Neumología y Pediatría, que son los principales receptores de pacientes con gripe A con criterios de ingreso, y como tercer escalón de exposición quedaría el servicio de Cirugía General, en el que en principio no se atiende a pacientes cuya causa de ingreso sea padecer gripe A.

Si como cabe esperar existe un gradiente de exposición laboral (mayor en el primer grupo, menor en el tercero), las infecciones por H1N1(2009) deberían ser más incidentes en el personal de Urgencias.

Por tanto, el seguimiento de una cohorte de alto riesgo por su exposición representa un escenario privilegiado para determinar cuál es la prevalencia al inicio de la pandemia de casos de infección por gripe H1N1(2009) asintomáticos o paucisintomáticos, así como para determinar cuál es la incidencia de estos en los sucesivos cortes que se realicen.

SUJETOS Y MÉTODOS

Tipo de estudio. Se propuso la realización de un estudio prospectivo de cohortes de base hospitalaria a nivel nacional entre agosto de 2009 y abril de 2010. El estudio

obtuvo la aprobación del Comité Ético del Hospital Costa del Sol de Marbella y del Comité Ético Autonómico de Andalucía.

Sujetos. El estudio incluye personal de plantilla de los servicios de Urgencias, Medicina Interna, Neumología, Cirugía General y Anestesia de los hospitales participantes, incluyendo celadores y personal administrativo. En uno de los hospitales se incluyó al servicio de Pediatría por ser hospital de referencia infantil a nivel provincial, y para poder comparar si la exposición del personal del servicio de Pediatría difiere de la de los servicios de las áreas médicas.

Se consideraron cuatro tipos de población sanitaria según el riesgo teórico de exposición al virus: población de alto riesgo (personal adscrito al servicio de Urgencias), de riesgo intermedio (adscritos a Medicina Interna, Neumología y Pediatría), y de bajo riesgo (adscritos a Cirugía General y Anestesia). Como grupo aparte se consideró a los celadores no adscritos a Urgencias por su movilidad intrahospitalaria.

Se inició el estudio entre la última semana de agosto y la segunda de septiembre de 2009 (T0), continuando entre la segunda semana de noviembre de 2009 y la última de enero de 2010 (T1) y finalizando entre la primera semana de mayo y la segunda de junio de 2010 (T2). Cada participante mostró su conformidad en participar en el estudio, mediante un consentimiento informado.

En cada uno de estos tres momentos (T0, T1, T2) se extrajo muestra de sangre para obtención de suero y se rellenó por parte de cada participante un cuestionario de salud, en el que se interrogaba al trabajador por la presencia de síntomas gripales, de condiciones predisponentes para sufrir complicaciones de gripe A y sobre el haber sufrido gripe H1N1(2009) de forma previa a la extracción de cada muestra. También se recogieron datos de vacunación frente a la gripe estacional y al nuevo virus de la gripe

H1N1(2009). No condicionó la participación en el estudio el haber recibido vacuna o no.

Variabes. La variable de resultado principal es la presencia de anticuerpos específicos para virus H1N1(2009). En el cuestionario de salud se interrogaba de forma específica por el diagnóstico clínico y/o virológico de gripe A.

Tamaño de muestra. Se estimaron diferentes escenarios posibles, según diversas situaciones hipotéticas:

1.-Incidencia de ingresos por gripe A muy baja, del tipo del 1% (0,01) en los menos expuestos y del 5% (0,05) en los más expuestos [RR=5].

2.-Prevalencia de infección asintomática del 70% y 80%, respectivamente.

Para un nivel de significación del 95%, una potencia del 80%, una prevalencia de infección en el grupo más expuesto del 80% frente a un 70% en el grupo menos expuesto (usando el caso más desfavorable), se necesitan al menos n=294 profesionales por grupo (Urgencias, Servicios Médicos, Servicios quirúrgicos y Celadores no de Urgencias), por lo que el tamaño mínimo global a reclutar en el estudio es de 1.176. Asumiendo entre un 10% y un 20% de negativas a participar, o deterioro de muestras, u otras situaciones, el tamaño mínimo asciende a 1.412.

Participaron en el estudio 18 hospitales de cinco comunidades autónomas: Hospital Costa del Sol de Marbella, Hospital de Antequera, Hospital Santa Ana de Motril, Hospital Materno-Infantil de Málaga, Hospital de Torrecárdenas, Complejo Hospitalario de Jaén, Hospital Virgen de Valme, Hospital Virgen de las Nieves y Hospital Puerta del Mar (Andalucía); Hospital del Tajo, Hospital Ramón y Cajal, y Hospital Infanta Leonor (Comunidad de Madrid), Hospital de Galdácano, Hospital de Basurto, y Hospital

de Donosti (País Vasco), Hospital del Mar y Hospital Clinic de Barcelona (Cataluña), y Hospital Santa Bárbara de Puertollano (Castilla-La Mancha).

En T0 sólo partiparon los hospitales Costa del Sol y de Antequera. El total de sanitarios que participaron en el primer corte fue de 256, en el segundo de 1371 y en el tercero de 844. En noviembre de 2010 disponemos de los datos informatizados (resultados de los estudios serológicos y cuestionarios de salud) de cuatro de los hospitales participantes (Hospital Virgen de las Nieves, Hospital Clinic de Barcelona, Hospital del Mar y Hospital del Tajo). El resto de hospitales están pendientes de completar el análisis de las muestras y/o la informatización de los cuestionarios de salud.

Estudio de anticuerpos frente a AH1N1v. Se realizó por técnica de IHA, mediante una modificación del ensayo previamente descrito¹². Brevemente, sueros tratados con RDE (receptor destroying enzyme) (Seiken, Japón) (37°C, toda la noche), adsorbidos con hemáties de cobaya al 50% (temperatura ambiente, 30 min), centrifugados, e inactivados por calor (56°C, 30 min), son diluidos (volumen base 50 μ L) en diluciones dobles (desde 1:10 hasta 1:640). Se añade una preparación de antígeno de gripe A/H1N1v, obtenido mediante cultivo en la línea celular MDCK y pretitulado diariamente (4-8 unidades hemaglutinantes) en cada pocillo, permitiendo reaccionar a temperatura ambiente durante 30 min. A continuación se añade una suspensión de eritrocitos de cobaya al 0,75%, incubando como antes, procediéndose a la lectura del ensayo. En cada ensayo se incluyen sueros de control, titulaciones de los antígenos empleados, y de aglutinación inespecífica de los sueros.

El título de anticuerpos de cada suero es la dilución más alta que muestra inhibición del poder hemaglutinante del antígeno viral. Se han considerado como positivos los sueros con títulos iguales o superiores a 1:40.

Análisis estadístico. Se ha realizado estadística descriptiva, centrándose en la prevalencia de infección asintomática por gripe A.

RESULTADOS

Los cuatro hospitales de los que se presentan resultados participaron sólo en T1 y T2, sumando 263 y 223 sanitarios respectivamente. En la tabla 1 se exponen los resultados de participación en cada centro por categoría profesional y área hospitalaria.

El Hospital del Tajo reclutó un total de 71 sanitarios en T1, de los que persistieron 65 en T2. Ninguno de estos sanitarios fue diagnosticado de gripe A, ni vacunado con la vacuna estacional, y tan solo uno se vacunó frente a la gripe pandémica. Las serologías positivas en T1 fueron 58 (81,7%), sumándose dos más en T2 (84,5%). El 100% del personal de Urgencias y Medicina Interna que colaboró en el estudio presentó serología positiva, frente al 66% de los del área quirúrgica. Por tanto, hubo 59 sanitarios que, sin presentar diagnóstico de gripe o haberse vacunado, positivizaron la serología frente a gripe H1N1(2009), lo que constituyó el 83% del total. El sanitario vacunado positivizó la serología.

En el Hospital Clinic de Barcelona se reclutó a un total de 58 sanitarios en T1, persistiendo 33 en T2. Tres fueron diagnosticados de gripe AH1N1v y 17 se vacunaron frente a la gripe pandémica. De estos últimos, 11 presentaron serología positiva (64,7%). De los que presentaron gripe A, ninguno positivizó la serología, si bien sólo contamos con la primera muestra para serología. Cuatro sanitarios presentaron serología positiva sin haberse vacunado y sin haberse diagnosticado gripe A (6,8% del total). Dos de estos casos pertenecían al área de urgencias (enfermería y celador), uno al área médica (enfermería) y uno a la quirúrgica (auxiliar).

El Hospital del Mar de Barcelona reclutó 63 sanitarios en T1, de los que persistieron 55 en T2. Cuatro sanitarios fueron diagnosticados de gripe A y 17 se vacunaron frente a gripe A. De estos últimos, 11 (64,7%) presentaron serología positiva. De entre los sintomáticos, tres presentaron serología negativa y una positiva. Diez sanitarios presentaron serología positiva sin haberse vacunado o haber sido diagnosticados de gripe A (15,8% del total). De éstos, cinco casos provenían del área de urgencias (cuatro de enfermería y uno entre los auxiliares), tres del área quirúrgica (dos médicos y una enfermera) y dos de celadores no adscritos al área de urgencias.

El Hospital Virgen de las Nieves de Granada reclutó un total de 71 sanitarios en T1, persistiendo 70 en T2. Se diagnosticaron dos casos de gripe A y se vacunaron 16 sanitarios. En estos últimos, 3 (18,8%) presentaron serología positiva. De los que refirieron gripe A, ninguno positivizó la serología. Cuatro sanitarios presentaron serología positiva frente a gripe AH1N1v sin haberse vacunado o haber presentado diagnóstico de gripe (5,6% del total). Tres de estos casos provenían del área de urgencia (médicos) y uno del área quirúrgica (enfermería).

Los datos de participación de los cuatro hospitales, junto con los de diagnóstico de gripe AH1N1v, vacunación frente a gripe AH1N1v y serologías positivas se exponen de manera sumaria en la tabla 2.

Por categorías profesionales presentaron serología positiva el 44,9% de los médicos, el 52,9% de las enfermeras, el 46,51% de las auxiliares y el 20% del conjunto de celadores y administrativos. La diferencia entre este último grupo y el resto fue estadísticamente significativa ($p=0,0001$). De los casos de gripe AH1N1v cinco se dieron entre médicos, cuatro en enfermeras y uno en auxiliares de enfermería. Se vacunaron frente a gripe AH1N1v el 25,6% de los médicos, el 15,9% de las enfermeras, el 13,9% de las

Tabla 1
Sanitarios participantes en el estudio, estratificados por hospital, área hospitalaria y categoría profesional

	del Tajo	Clinic de Barcelona	del Mar	Virgen de las Nieves	Total
URGENCIAS	19	22	14	18	73
Médicos	5	5	1	6	17
Enfermeras	8	5	6	2	21
Auxiliares	5	5	2	1	13
Celadores	1	4	2	7	14
Administrativos	0	3	3	2	8
M. INTERNA/NEUMOLOGÍA	17	15	13	17	62
Médicos	8	5	8	5	26
Enfermeras	7	5	5	8	25
Auxiliares	2	5	0	4	11
CIRUGÍA/ANESTESIA	33	15	29	18	95
Médicos	11	5	15	4	35
Enfermeras	15	5	12	9	41
Auxiliares	7	5	2	5	19
Celadores (no urgencias)	2	6	7	18	33
TOTAL	71	58	63	71	263

Tabla 2
Resumen de los resultados de los hospitales analizados

	Tajo Aranjuez	Clinic Barcelona	del Mar Barcelona	Virgen de las Nieves Granada
Participantes T1	71	58	63	71
Participantes T2	65	33	55	70
Diagnosticados	0	4	4	2
Vacunados	1	17	17	16
Serología + T1	58	14	24	6
Serología + T2	2	4	1	3

auxiliares de enfermería y el 9% de los celadores y administrativos de urgencias.

Por áreas del hospital presentaron serología positiva el 50,7% de los participantes del área de urgencias, el 48,4% de los del área médica, el 41,1% de los del área quirúrgica y el 18,8% de los celadores no adscritos al servicio de urgencias. La diferencia de este último grupo con el resto fue también estadísticamente significativa ($p=0,002$). De los casos de gripe A, cuatro se dieron en personal de urgencias, cuatro en personal del área médica y dos en el área quirúrgica. Se vacunó el 12,3% del personal de urgencias, el 29% del personal del área médica, el 14,7% del personal del área quirúrgica y el 27% de los celadores no adscritos al servicio de urgencias.

DISCUSIÓN

En este análisis parcial de datos llama la atención la variabilidad de la prevalencia de casos asintomáticos entre los cuatro hospitales de los que se exponen resultados. Dicha prevalencia es similar en dos hospitales de Barcelona (5,6-6,8% en el Hospital Virgen de las Nieves y Hospital Clinic de Barcelona), más alta en el Hospital del Mar de Barcelona (15,8%) y desde luego mucho más elevada (83%) en el único hospital madrileño del que disponemos de todos los datos (hospital del Tajo). Cabe destacar que en este centro ninguno de los participantes en el estudio refirió haber sufrido gripe A. En el análisis global de los datos se dispondrá de

otros dos hospitales madrileños más, lo que nos permitirá dirimir si se trata de un fenómeno local o si existe un gradiente geográfico en el porcentaje de sanitarios asintomáticos con serología positiva.

Un segundo aspecto relevante es el bajo porcentaje de vacunación entre los sanitarios, en los cuatro hospitales analizados se vacunó tan solo el 19,4% de los sanitarios participantes, siendo el porcentaje prácticamente nulo en el hospital del Tajo y bastante homogéneo en los otros tres hospitales analizados (29% en el hospital Clinic de Barcelona, 27% en el hospital del Mar y 22,5% en el hospital Virgen de las Nieves). La vacunación en personal sanitario tiene una doble función: por una parte proteger a este personal estratégico ante situaciones de pandemia, y por otra parte minimizar el papel que tienen los sanitarios en la transmisión de las enfermedades infecciosas. Es bien conocido que el personal sanitario tiene un papel muy importante en la transmisión de alguna enfermedad inmunoprevenible, como es el caso del sarampión en España¹³. Estudios recientes confirman que ha recibido la vacuna pandémica la población con mayor nivel cultural y de salud, como sucede en los receptores de vacunas antigripales¹⁴. También en nuestro estudio se muestra un cierto gradiente en el porcentaje de vacunaciones según la categoría profesional, siendo este porcentaje mayor entre los médicos y menor entre los celadores. Un estudio recientemente publicado, realizado en Turquía en personal sanitario, revela que el 12,7% del perso-

nal sanitario recibió la vacuna¹⁵, porcentaje menor al presentado en el presente estudio. Las causas de rechazo más frecuentemente aludidas fueron los supuestos efectos adversos, la posible baja eficacia de la vacuna y las noticias adversas publicadas en prensa y televisión¹⁵.

En lo que se refiere a la efectividad vacunal expresada en términos de seroconversión fue similar en los dos centros barceloneses (en torno a dos tercios de los vacunados), y similar a lo publicado al estudiar población adulta¹⁶, aunque fue menor en el Hospital Virgen de las Nieves.

No contamos con un número suficiente de casos como para poder estudiar la existencia de un gradiente de exposición que se traduzca en un mayor porcentaje de sanitarios asintomáticos con serología positiva.

Algunos de los casos que refieren antecedentes de enfermedad no han mostrado presencia de anticuerpos específicos frente a gripe H1N1(2009) por IHA. La aplicación de ensayos que pudieran presentar una mayor sensibilidad, como es el caso de la MNt10 permitiría confirmar la seroconversión.

En resumen, evidenciamos en este primer análisis un porcentaje de sanitarios asintomáticos con serología positiva para gripe A, variable en función de los diferentes hospitales, y que podría apuntar a una cierta distribución geográfica.

BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization 2. Global alert and response: Pandemic (H1N1). Geneva: World Health Organization; 2009. Disponible en: <http://www.who.int/csr/disease/swineflu/en>.
2. United States Centers for Disease Control and Prevention. Interim guidance for clinicians on identifying and caring for patients with swine-origin influenza A (H1N1) virus infection. Atlanta, Centers for Disease Control and Prevention; 2010. Disponible en: <http://www.cdc.gov/swineflu/identifyingpatients.htm>

3. Sachedina N, Donaldson LJ. Paediatric mortality related to pandemic influenza A H1N1 infection in England: an observational population-based study. *Lancet*. 2010 Oct 26. [Epub ahead of print]

4. Shinde V, Bridges CB, Uyeki TM, Shu B, Balish A, Xu X, et al. Triple-reassortant swine influenza A (H1) in humans in the United States, 2005-2009. *N Engl J Med*. 2009; 360: 2616-2625.

5. Jamieson DJ, Honein MA, Rasmussen SA, Williams JL, Swerdlow DL, Biggerstaff MS, et al. H1N1 2009 influenza virus infection during pregnancy in the USA. *Lancet*. 2009; 374(9688): 451-458.

6. Viasus D, Paño-Pardo JR, Pachón J, Campins A, López-Medrano F, Villoslada A, et al. Factors associated with severe disease in hospitalised adults with pandemic (H1N1) 2009 in Spain. *Clin Microbiol Infect*. 2010 Sep 3. doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03362.x. [Epub ahead of print]

7. Update: novel influenza A (H1N1) virus infections - worldwide, May 6, 2009. *Morb Mortal Wkly Rep*. 2009; 58: 453-458.

8. Mossong J, Hens N, Jit M, Beutels P, Auranen K, Mikolajczyk R, et al. Social contacts and mixing patterns relevant to the spread of infectious diseases. *PLoS Med*. 2008; 5(3): e74.

9. Miller E, Hoschler K, Hardelid P, Stanford E, Andrews N, Zambon M. Incidence of 2009 pandemic influenza A H1N1 infection in England: a cross-sectional serological study. *Lancet*. 2010; 375(9720): 1100-1108.

10. Greenberg ME, Lai MH, Hartel GF, Wichems CH, Gittleson C, Bennet J, et al. Response to a monovalent 2009 influenza A (H1N1) vaccine. *N Engl J Med*. 2009; 361: 2405-2413.

11. Serum cross-reactive antibody response to a novel influenza A (H1N1) virus after vaccination with seasonal influenza vaccine. *Morb Mortal Wkly Rep*. 2009; 58: 521-524.

12. Kendal AP, Pereira MS, Skehel JJ. Concepts and procedures for laboratory based influenza surveillance. Atlanta: Centers for Disease Control, 1982

13. Peña-Rey I, Martínez de Aragón V, Mosquera M, de Ory F, Echevarría JE, Measles Elimination Plan Working Group in Spain. Measles risk groups in Spain: implications for the European measles-elimination target. *Vaccine*. 2009; 27: 3927-3934.

14. Raude J, Caille-Brillet AL, Setbon M. The 2009 pandemic H1N1 influenza vaccination in France: who

accepted to receive the vaccine and why? *PLoS Curr.* 2010; 2: RRN1188.

15. Savas E, Tanriverdi D. Knowledge, attitudes and anxiety towards influenza A/H1N1 vaccination of healthcare workers in Turkey. *BMC Infect Dis.* 2010; 10: 281.

16. Vajo Z, Tamas F, Sinka L, Jankovics I. Safety and immunogenicity of a 2009 pandemic influenza A H1N1 vaccine when administered alone or simultaneously with the seasonal influenza vaccine for the 2009-10 influenza season: a multicentre, randomised controlled trial. *Lancet.* 2010; 375(9708): 49-55.

Anexo 1

Grupo de Trabajo para el Estudio MARBEGRIP

Javier García-Alegría, Alfonso del Arco, Javier de la Torre, José Luis Prada, Miguel Marcos, Fernando Fernández, Marta Aranda, Manuel Vergara, Juan Carlos Toribio, José Antonio Rodríguez y Paola Pérez (Hospital Costa del Sol), Antonio Jesús Núñez, José Javier Santos y Francisco Pozo (Hospital de Antequera), José María Quintana, Susana García y Carlota Las Hayas (Hospital de Galdácano), Antonio Escobar, Juan Carlos Fernández y María García (Hospital de Basurto), José Ramón Sáenz, Emilio Pérez-Trallero y Diego Vicente (Hospital de Donosti), Ignacio Sánchez Arcilla, Marina Fernández y Magdalena Muedra (Hospital Ramón y Cajal), Consol Serra, Rocío Villar y Josefina Pi-Sunyer (Hospital del Mar), Pilar Varela, Victoria Oliver y Ana Vileilla (Hospital Clinic de Barcelona), Carlos Pareda y María Angeles Herrería (Hospital de Santa Bárbara), Carmen Valero, Lucía Fernández y María Angustias Romera (Hospital de Santa Ana), Pedro González y José María Jover (Complejo Hospitalario de Jaén), Manuel Zarzuela, José Gutiérrez y María Carmen Lozano (Hospital Puerta del Mar), Fernando Yélamos, Manuel Rodríguez y José Ramón Maldonado (Hospital de Torrecárdenas), María Carmen Ubago, Amelia Fernández y Dolores Torres (Hospital Virgen de las Nieves), Salvador Oña, Juan Arcos y Dolores Lerma (Hospital Materno

Infantil de Málaga), David Sadia y José Bascañana (Hospital Infanta Leonor), Berta Moyano y Elías Rodríguez (Hospital del Tajo), Francisco Martos (Facultad de Medicina, Universidad de Málaga), Antonio Daponte (Escuela Andaluza de Salud Pública), María José Pérez, Encarnación Román, Carmen Escassi y Eduardo Briones (Hospital de Valme, Sevilla), José María Mayoral (Dirección General de Salud Pública, Consejería de Salud de la Junta de Andalucía), y Mónica González Esguevillas, Isabel Pérez Grajera y Jesús María de la Fuente (Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III).