



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Caracterización epidemiológica, clínica e inmunológica del Síndrome Inflamatorio Multisistémico Pediátrico asociado a la infección por SARS-CoV-2

Rosa M^a Pino Ramírez

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

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

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

**Caracterización epidemiológica, clínica e inmunológica
del Síndrome Inflamatorio Multisistémico Pediátrico
asociado a la infección por SARS-CoV-2**

Doctorando: Rosa M^a Pino Ramírez

Directores: Drs. Clàudia Fortuny Guasch y Jordi Antón López

Tutor: Jordi Antón López

Noviembre 2024



UNIVERSITAT DE
BARCELONA



Sant Joan de Déu
Barcelona · Hospital

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, me gustaría agradecer a mis Directores de Tesis, el Dr. Jordi Antón y la Dra. Claudia Fortuny, su apoyo y sus importantes aportaciones, sin las cuales la realización de esta tesis no hubiese sido posible. Jordi, el goteig constant de bibliografia i de webinars durant tot el procés, han permès que el camí sigui aprofitat i que pugui ser gaudit, inclús en aquest moment final. Clàudia, present sobre tot en el “sprint” final i estructurant aspectes acadèmics. Moltíssimes gràcies.

Agradecer también la colaboración de todos los pediatras del Grupo de Trabajo sobre infección por SARS-CoV-2 en HSJD (KIDS-Corona, liderado por la Dra. I. Jordan y el Dr. J.J. García), Cataluña (COPEDICAT, liderado por el Dr. Antoni Soriano) y España (EPICO, liderado por Dr. Alfredo Tagarro y Dra. Cinta Moraleda) y al Biobanco de SJD, sin los cuales la realización de este trabajo no hubiera sido posible. Coincidir con todos ellos en el camino ha sido una maravillosa oportunidad de desarrollo profesional y personal.

También quisiera agradecer el apoyo y ayuda de los servicios que, de forma transversal, han tratado y acompañado a pacientes y familias en una situación tan anómala como lo es una pandemia: Urgencias, Intensivos, Reumatología, Infectología, Cardiología, Inmunología, Radiología, Laboratorio... Aunque, especialmente, a Mariona, Juanjo y Vicky por confiar siempre y darme la oportunidad de empezar este proyecto. A mis compañeros y compañeras del equipo de Hospitalización Pediátrica del Hospital Sant Joan de Déu, por apoyarnos durante toda la pandemia en “la trinchera”. Sobre todo, a los recientes doctores del servicio: Aleix Soler, María Melé, María Hernández, Astrid Batlle y Georgina Armero... gracias por vuestro acompañamiento, consejos académicos y trucos administrativos. A la Gemma i a l’Aina, ja falta poc, molts ànims! A la Dra. Silvia Ricart, por compartir los principios en la 7ª planta... això mai s’oblida! A la Dra. Laia Alsina y la Dra. (ya catedrática) Iolanda Jordan, por su generosidad y por ser unas referentes a nivel profesional y personal. Al Dr. Antoni Noguera y a la Dra. Ana Esteve, recordando la maratón a velocidad pandémica de los primeros artículos. Gracias a todos por vuestro tiempo, paciencia y consejos.

Agradecer también a mi familia su apoyo y paciencia durante los últimos 4 años. Al amor incondicional de mis padres (Pepe y Carmen) y mis hermanos (Cristina y José). A la ayuda inestimable de mis suegros (Francina y Rosendo), y en especial en memoria de Rosendo, que se nos fue con la pandemia. A toda mi familia.

A mis amigos, los de siempre (mis chicas del Pla) y los de ahora, que me han ayudado en los altos y bajos, pero, sobre todo, con los canguros de mis hijos. Gracias PSR, en especial a mis Elis, Raquel, Joan, Ester, Vir, Raúl... Gracias Timberlakets. Gracias Calellos. Gracias comunidad Pins. Gracias también a Estíbaliz, por las conversaciones infinitas sobre temas médicos (y personales), de cómo iba la pandemia al otro lado del charco.

A mis hijos, Emma, Max y Pol, el motor de mi vida. Siento si os he robado tiempo con este trabajo, pero nos habéis ayudado muchísimo. Os amo infinito.

Por último, agradecer a David, mi co-CEO, compañero, amigo y apoyo incondicional, sin el que nada de esto hubiese sido posible. Soy muy afortunada, hacemos un gran equipo. Te admiro y te quiero.

Y a todos los pacientes y sus familias que, desde un principio, comprendieron que era un trabajo conjunto el poder dar respuesta a este nuevo reto, siempre con generosidad y paciencia, en beneficio para sus hijos y para los que vendrían después.

FINANCIACIÓN

Algunos de los estudios que conforman esta tesis pudieron ser llevados a cabo gracias a la Plataforma Kids Corona, financiada por el Banco Santander, la Fundación Stravros Niarkos y otros donantes privados. Dicha plataforma se creó en abril del 2020, con el objetivo de impulsar estudios de investigación que permitiesen averiguar cómo afectaba el SARS-CoV-2 a los niños y a las mujeres embarazadas, así como tratar de entender por qué la población infantil parecía estar más protegida frente a la COVID-19 en comparación a los adultos, según la información procedente de Wuhan. Producto de esta colaboración es la publicación de la primera serie de HSJD de pacientes con EK vinculada a SARS-CoV-2 en agosto del 2020, y una segunda publicación sobre la inmunogenicidad y estudio de interleucinas en la población MIS-C y EK.

En la misma línea, en marzo del 2020, se creó la plataforma COPEDICAT, Red Catalana de estudio de enfermedad pediátrica asociada a infección por SARS-CoV-2, compuesta por 120 pediatras e investigadores de 71 centros de Atención Primaria y de hospitales públicos y privados de Cataluña. Tenía también como objetivo investigar sobre la infección por SARS-CoV-2 en Pediatría. Como fruto de la colaboración con nuestro centro, es la publicación sobre la incidencia y epidemiología del MIS-C en Cataluña que forma parte de esta tesis.

Asimismo, también se ha colaborado a nivel nacional en el registro EPICO, creado en julio del 2020, coordinado desde el Instituto de Investigación del Hospital 12 de octubre i+12 en colaboración con la Asociación Española de Pediatría. Este registro integra a 76 hospitales de 17 comunidades autónomas diferentes y ha permitido conocer cómo se comporta la infección por SARS-CoV-2 en los niños, su impacto en la epidemia global y sus consecuencias en la población infanto-juvenil. Como fruto de la colaboración con nuestro centro, se publicó el artículo sobre las características clínicas y los factores de riesgo asociados a la infección por SARS-CoV-2 en pediatría.

ÍNDICE

1	ABREVIATURAS	11
2	ENUMERACIÓN DE LOS ARTÍCULOS DE LA TESIS	13
3	INTRODUCCIÓN	17
3.1	Generalidades:	17
3.2	Declaración de la pandemia por SARS-CoV-2. Contextualización histórica. 20	
3.3	El virus SARS-CoV-2.	21
3.3.1	Descripción y clasificación.....	21
3.3.2	Variantes del SARS-CoV-2.....	22
3.3.3	Estructura y replicación	25
3.3.4	Epidemiología	27
3.3.5	Clínica y fisiopatología	29
3.3.6	Fisiopatología de la infección por SARS-CoV-2 e inmunidad	31
3.3.7	Métodos diagnósticos	39
3.4	Síndrome inflamatorio multisistémico pediátrico asociado a SARS-CoV-2 44	
3.4.1	Definición. Contexto histórico	44
3.4.2	Infección por SARS-CoV-2 y relación con el MIS-C	47
3.4.3	Epidemiología del MIS-C	48
3.4.4	Distribución racial, edad y sexo.....	49
3.4.5	Fenotipos clínicos y formas de presentación del MIS-C.	50
3.4.6	Hipótesis fisiopatológicas	53
3.4.7	Tratamiento del MIS-C	59
3.4.8	Seguimiento y evolución a largo plazo	60
3.5	MIS-C y la enfermedad de Kawasaki	63
3.5.1	Introducción histórica de la enfermedad de Kawasaki.....	63
3.5.2	Infecciones y EK	64
3.5.3	Epidemiología de la EK durante la pandemia	66
3.5.4	Similitudes y diferencias entre MIS-C y EK.	68
4	JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO.....	72
5	HIPÓTESIS	74
6	OBJETIVOS.....	76
7	MATERIAL Y MÉTODOS.....	78
7.1	Primera publicación	78

Resumen de la primera publicación:	79
7.2 Segunda publicación.....	84
Resumen de la segunda publicación:	85
7.3 Tercera publicación.....	100
Resumen de la tercera publicación:	101
7.4 Cuarta publicación	112
Resumen de la cuarta publicación:	113
8 DISCUSIÓN	125
8.1 Primeros casos de EK asociada a SARS-CoV-2 en nuestro medio. Definición de caso clínico.	126
8.2 Epidemiología del MIS-C y variabilidad de presentación a través de la pandemia.....	130
8.3 Hipótesis etiopatogénica. Inmunología de MIS-C y perfil de citoquinas .	139
9 CONCLUSIONES:.....	145
10 BIBLIOGRAFÍA	149

1 ABREVIATURAS

ARN	Ácido ribonucleico
CDC	<i>Central Disease Control</i>
CLIA	<i>Chemiluminescence immunoassay</i> (Test inmunológico por quimioluminiscencia)
COPEDICAT	Red Catalana de estudio de enfermedad pediátrica asociada a infección por SARS-CoV-2.
COVID-19	Enfermedad por infección por SARS-CoV-2
CRP	C-reactive protein (Proteína C reactiva)
ECA2	Enzima convertidora de angiotensina 2
EK	Enfermedad de Kawasaki
ELISA	Enzimoinmunoanálisis de adsorción
EPICO	Red Española de estudio de enfermedad pediátrica asociada a COVID-19
et al.	<i>Et alii</i> (y otros)
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
IC	Inmunocomplejos
IC 95%	Intervalo de confianza del 95%
IGIV	Inmunoglobulina endovenosa
IF-Gamma	Interferón gamma
IL	interleucinas
KDSS	Enfermedad de Kawasaki con shock
KIDSCORONA	Red del HSJD de estudio de enfermedad pediátrica asociada a infección por SARS-CoV-2
NIH	<i>National Institute of Health</i>
MERS	<i>Middle East Respiratory Syndrome</i>
MIS-C	<i>Multisystem Inflammatory Syndrome in Children</i>
PIMS	<i>Pediatric Inflammatory Multisystem Syndrome</i>
p	p-valor
RT-PCR	<i>Reverse transcription pollymerase chain reaction</i> (Reacción en cadena de la polimerasa con trasncripción inversa)

RCPCH	<i>Royal College of Paediatrics and Child Health</i>
RR	Riesgo relativo
SARS-CoV-2	<i>Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2</i>
SIM-PedS	Síndrome inflamatorio multisistémico pediátrico vinculado a SARS-CoV-2
UCI	Unidad de Cuidados Intensivos
VOC	<i>Variants of concern</i> (Variantes preocupantes)
WHO	<i>World Health Organization</i> (Organización Mundial de la Salud)

2 ENUMERACIÓN DE LOS ARTÍCULOS DE LA TESIS

Tesis en formato de compendio de publicaciones

Los resultados del trabajo presentado han sido incluídos total o parcialmente, en cuatro publicaciones. El primero de los trabajos es una carta, publicada tres meses después de declararse la alerta sobre esta nueva enfermedad, y que constituyó la base de los trabajos posteriores. Contiene datos clínicos de los primeros pacientes diagnosticados de EK vinculada a SARS-CoV-2 y/o MIS-C en nuestro medio. La segunda, tercera y cuarta publicación corresponden a artículos de investigación originales en los que la doctoranda es primera, tercera y parte del equipo investigador respectivamente. Se añade una guía de práctica clínica nacional sobre el tema monográfico en que se desarrolla la tesis, en el que la doctoranda también es autora. Todos estos trabajos ponen en evidencia la experiencia adquirida durante la doctoranda acerca del tema desarrollado en la tesis.

Todos los artículos han sido publicados en revistas situadas en el primer cuartil de factor de impacto en sus áreas de conocimiento respectivas. Asimismo, dos de los trabajos han sido presentados en congresos científicos internacionales.

1) Primera publicación

- **Pino R., Izurieta A.C, Riera S., Ricart S, Fernández de Sevilla. M, Sanchez J., Mosquera J.M, Jordan I., Sánchez de Toledo J., Monsonís M., Esteva C., Muñoz-Almagro C., Fumado V., Fortuny C., García J.J., Noguera A., Anton J.**
- **Correspondence on: ‘Paediatric multisystem inflammatory syndrome temporally associated with SARS-CoV-2 mimicking Kawasaki disease (Kawa-COVID-19): a multicentre cohort’ by Pouletty *et al.***
- Revista: Annals of the Rheumatic Diseases 2022;81:e159.
- ISI Journal Citation Reports Ranking® 2021: Q1.
- Factor de Impacto: 19,103
- Área de Reumatología.

2) Segunda publicación

- **Pino R.**, Antoñanzas JM, Paredes-Carmona F, Perramon A, Rivière JG, Coma M, Martínez-Mejías A, Ripoll F, López N, Conti R, Sala-Castellví P, Ruiz M, Brio S, García-Lorenzo M, Esteller M, Carreras-Abad C, Herrero-Hernando C, Schneider SO, Gatell A, Aguilar I, Cantero J, Ruiz G, Fenollosa T, Lobato Z, Villalobos P, Mora E, Anton J, Visa-Reñé N, Soler-Palacin P, Calavia O, Esquirol-Herrero C, Guarch-Ibañez B, García-García JJ, Coma E, Fina F, Prats C, Soriano-Arandes A.
- **Multisystem inflammatory syndrome in children and SARS-CoV-2 variants: a two-year ambispective multicentric cohort study in Catalonia, Spain.**
- Revista: Eur J Pediatr. 2023 Feb 18:1–13.
- ISI Journal Citation Reports Ranking ® 2021: Q1.
- Factor de Impacto: 3,86
- Área de Pediatría.

Resultados presentados en el **40th Annual Meeting fo the European Society Paediatric Infectious Disease (ESPID) 2022.**

3) Tercera publicación

- Esteve A, **Pino R**, Sánchez J, Fumadó V, Fortuny C, Ríos M, Sánchez de Toledo J, Girona M, Mosquera JM, Ricart S, Launes C, Fernández de Sevilla M, Jou C, Muñoz C, González E, Vergara A, Juan M, Cuadras D, Noguera A, Jordan I, Alsina L.
- **Similarities and differences between the immunopathogenesis of COVID-19-related pediatric inflammatory multisystem syndrome and Kawasaki disease.**
- Revista: *J Clin Invest.* 2021;[131\(6\)](#):e144554
- ISI Journal Citation Reports Ranking ® 2021: Q1.
- Factor de Impacto: 19,477
- Área de Investigación Médica.

Resultados presentados como comunicación oral en el **I Congreso Europeo de la Enfermedad de Kawasaki (EURO-KiDS 2021)**.

4) Cuarta publicación

- Tagarro A, Cobos-Carrascosa E, Villaverde S, Sanz-Santaeufemia FJ, Grasa C, Soriano-Arandes A, Hernanz A, Navarro ML, **Pino R**, Epalza C, Batista R, Rizo J, Iglesias-Bouzas MI, Rodríguez-Molino P, Villanueva-Medina S, Carrasco-Colom J, Alonso-Cadenas JA, Mellado MJ, Herrero B, Melendo S, De La Torre M, Calleja L, Calvo C, Urretavizcaya-Martínez M, Astigarraga I, Menasalvas A, Penin M, Neth O, Berzosa A, De Ceano-Vivas M, Vidal P, Romero I, González R, García ML, Mesa JM, Ballesteros Á, Bernardino M, Moraleda C; EPICO-AEP Working Group.
- **Clinical spectrum of COVID-19 and risk factors associated with severity in Spanish children.**
- Revista: Eur J Pediatr. 2022 Mar;181(3):1105-1115.
- ISI Journal Citation Reports Ranking ® 2021: Q1.
- Factor de Impacto: 3,86
- Área de Pediatría.

INTRODUCCIÓN

3 INTRODUCCIÓN

3.1 Generalidades:

En diciembre de 2019 fueron identificados en la provincia de Wuhan (China) múltiples casos de una nueva enfermedad, siendo identificado y secuenciado poco después el agente responsable de la misma: un nuevo coronavirus. El cuadro clínico, cursaba con una neumonía e insuficiencia respiratoria, características que recordaban al SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome) descrito en 2002, y por este motivo el coronavirus responsable se denominó SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome -SARS- Coronavirus-CoV- 2)(1). En pocas semanas, la OMS declaró estábamos ante una nueva pandemia, que se dio por finalizada el 5 de mayo de 2023.

La enfermedad resultada de la infección por SARS-CoV-2, cuya clínica característica es fundamentalmente respiratoria, se denominó COVID-19 (Coronavirus disease 2019). Desde el inicio de la pandemia ha quedado bien establecido que el impacto de la infección por SARS-CoV-2 en niños es claramente diferente al observado en adultos. La mayoría de los niños con infección por SARS-CoV-2 confirmada presentan una enfermedad leve y muchas veces asintomática. Las manifestaciones más frecuentes son fiebre, tos, cefalea, congestión nasal y con mayor frecuencia que en adultos síntomas gastrointestinales. Sólo excepcionalmente durante el cuadro agudo, evolucionan a formas graves de la enfermedad (COVID-19) con afectación respiratoria, que obligan a su hospitalización, siendo ello más frecuente si presentan enfermedades de base (2) .

No obstante, alrededor de un mes después de declararse la pandemia, el Royal College of Paediatrics and Child Health (RCPCH), en Reino Unido, notificó la aparición de un nuevo síndrome inflamatorio en pacientes pediátricos, con clínica de miocarditis y shock asociado a la infección por SARS-CoV-2. Pronto otros países (España, Francia, Italia, EE.UU) reportaron pacientes con clínica similar y el 14 de mayo de 2020, los Centers for Disease Control and Prevention de los Estados Unidos publicaron una alerta de salud que informaba sobre un síndrome inflamatorio multisistémico en niños (Multisystem Inflammatory Syndrome in Children, MIS-C) asociado con COVID19. Tal y

como su nombre indica se trata de un proceso que cursa con afectación multisistémica y shock, en ocasiones con características parecidas a la enfermedad de Kawasaki (EK) (Kawasaki-like), que puede comprometer la vida del paciente.

Durante la pandemia se puso de manifiesto la importancia del trabajo multidisciplinar y en red, para aglutinar el máximo número de pacientes y poder establecer las bases epidemiológicas, clínicas e inmunológicas de la nueva entidad. Para este fin en julio de 2020, la Asociación Española de Pediatría (AEP), a través de su Fundación, anunciaba la creación, apoyo y financiación de EPICO-AEP: “Estudio de las infecciones por el nuevo coronavirus (SARS-CoV-2) e influencia de los factores genéticos del huésped en población pediátrica”. Con ello se constituía un registro nacional, con la colaboración de múltiples hospitales, de pacientes pediátricos afectados por COVID-19 durante la epidemia en España. Coordinado por el Dr. Alfredo Tagarro y la Dra. Cinta Moraleda (desde el Instituto de Investigación Hospital 12 de Octubre de Madrid), cuenta con la colaboración de más de 80 hospitales (de las 17 Comunidades Autónomas de España). Esta colaboración ha permitido conocer cómo se ha comportado la enfermedad en los niños y adolescentes, su impacto en la epidemia global y sus consecuencias en la población infanto-juvenil, incluyendo su forma inflamatoria post-infecciosa conocida como MIS-C.

De forma paralela, en Cataluña, nació el proyecto COPEDI-CAT (Coronavirus Pediatría Cataluña). Se trata de un proyecto prioritario de actuación de Salud Pública que incluyó un importante número de pediatras hospitalarios y de atención primaria, con el objetivo de determinar las características epidemiológicas, manifestaciones clínicas, posibles co-infecciones virales, así como, determinar la distribución territorial de la enfermedad de la COVID-19 pediátrica en Cataluña identificando factores de riesgo asociados tanto a la enfermedad infecciosa, como a su relación con el síndrome inflamatorio. Esta red fue coordinada desde el Hospital Vall d’Hebron por el Dr. Antoni Soriano, y permite, con la colaboración de centros de primaria y hospitalaria de todo el territorio catalán, tener una fotografía territorial del impacto de la infección y del MIS-C en un ámbito controlado. Asimismo, la plataforma COPEDI-CAT contó con la colaboración del grupo de biología computacional y sistemas complejos BIOCOM-SC,

de la Universidad Politécnica de Cataluña (UPC), liderado por la Dra. Clara Prat, que permitió analizar los datos e información. Precisamente, es en éste último grupo dónde la autora ha participado en calidad de Investigadora Colaboradora.

En mi lugar de trabajo, el Hospital Universitari Sant Joan de Déu (HUSJD, tras atender los primeros casos, fue creada una plataforma con un grupo de trabajo multidisciplinar (KIDS-Corona), con la finalidad de aglutinar los esfuerzos de la asistencia clínica y de la investigación, para dar respuesta a todas aquellas preguntas que se hacía la sociedad y los investigadores sobre la COVID-19 en niños y embarazadas. La plataforma permitió incluir y coordinar el trabajo multidisciplinar de diferentes especialidades (Hospitalización, Intensivos, Reumatología, Infecciosas, Cardiología, Inmunología, Laboratorio, Microbiología) permitió poder detectar y describir la enfermedad de una forma muy precoz (en los primeros 3 meses de pandemia), fruto de un gran esfuerzo personal y profesional para todos los colaboradores, teniendo en cuenta la situación epidemiológica que en aquel momento se vivía.

La doctoranda formó parte del grupo de trabajo del HUSJD, y colaboró con los estudios a nivel nacional (EPICO-AEP), como a nivel autonómico (COPEDI-CAT).

Al inicio de la pandemia, y de los primeros casos de MIS-C, se generaron muchas preguntas e innumerables incógnitas, que permitieron identificar factores implicados en su etiopatogenia, control y tratamiento adecuado. Algunas de estas dudas persisten en el momento de presentar estos resultados, por lo que se mantienen líneas de investigación que incluyen:

- Identificación de factores de riesgo asociados con el desarrollo de MIS-C en niños y adolescentes.
- Caracterización de los mecanismos moleculares y celulares que subyacen a la inflamación sistémica observada en el MIS-C.
- Entender los mecanismos fisiopatológicos del propio virus, su interacción con otros agentes infecciosos y la predisposición del huésped para desarrollar esta condición.

- Evaluación de la utilidad de diferentes biomarcadores para el diagnóstico y seguimiento de MIS-C.
- Análisis de los tratamientos utilizados actualmente para el MIS-C y su efectividad en la reducción de la mortalidad y morbilidad (sobre todo a nivel cardíaco).
- Estudio de las secuelas a largo plazo de MIS-C en la salud física y mental de los pacientes afectados.
- Desarrollo de modelos predictivos para la identificación temprana de pacientes en riesgo de desarrollar MIS-C.

Los estudios presentados, han intentado profundizar en el conocimiento del MIS-C, identificando aspectos relevantes de esta nueva enfermedad en nuestro medio y sus consecuencias. Durante el periodo de estudio, hemos asistido a avances importantes, fruto de la investigación, y colaboración de distintos profesionales y disciplinas. Aunque es necesario que el conocimiento y la práctica clínica dispongan de un reposo académico para asentar y afianzar estos conocimientos.

3.2 Declaración de la pandemia por SARS-CoV-2. Contextualización histórica.

A mediados de diciembre de 2019, se determinó un brote de una nueva enfermedad llamada “neumonía de Wuhan” (China continental), en personas que enfermaban con un tipo de neumonía desconocida (1,3,4). El 7 de enero de 2020, científicos chinos consiguieron aislar y secuenciar en estos pacientes un nuevo coronavirus. El Grupo de Estudio de Coronavirus y la OMS denominaron oficialmente SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2) y a la enfermedad que la causaba, COVID-19 (coronavirus disease 2019). La rápida propagación y declaración de nuevos casos, motivó que la OMS la declarara una emergencia de salud pública internacional el 30 de enero de 2020 y la reconoció como una pandemia el 11 de marzo del 2020 (5). Durante el 2020 y 2021 se cerraron colegios y universidades, un tercio de la población mundial fue confinada y se impusieron fuertes restricciones a la libertad de circulación.

El 5 de julio de 2023 se publicó la Orden SND/726/2023, con el Acuerdo del Consejo de Ministros de 4 de julio de 2023, por la que se declaró la finalización de la situación de crisis sanitaria ocasionada por la COVID-19. Concluyendo a partir de esa fecha la vigilancia universal de COVID-19 y la actualización periódica de informes.

3.3 El virus SARS-CoV-2.

3.3.1 Descripción y clasificación

El SARS-CoV-2 es un virus ARN que pertenece a la familia de los *Coronaviridae* (6). Fueron descritos hace más de cuarenta años, y se reconocen cuatro géneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* y *Deltacoronavirus* (7). El examen genealógico del SARS-CoV-2 reveló que pertenece al coronavirus del género *betacoronavirus* (8). En la actualidad existen 7 serotipos conocidos que afectan a la especie humana: cuatro de ellos (HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63, HCoV-HKU1) producen resfriado común y los tres restantes (SARS-CoV-1, SARS-CoV-2, MERS) han causado brotes de enfermedades graves en humanos (9).

Reciben su nombre por el aspecto que presentan sus viriones al microscopio electrónico, pareciéndose a una corona solar gracias a sus proteínas de superficie. Estructuralmente los coronavirus son virus esféricos que miden entre 80 a 160 nanómetros de diámetro, con una envoltura de bicapa lipídica y que contienen genoma de ARN monocatenario (ssRNA) de polaridad positiva de entre 27 y 30 kilobases de longitud (10). El genoma del virus SARS-CoV-2 codifica 5 proteínas estructurales: Proteína S (espiga), Proteína E (envoltura), Proteína M (membrana), Proteína N (nucleocápside) y la Hemaglutinina-esterasa. Entre estas cinco proteínas, las más importantes son la proteína N y la proteína S, donde la primera ayuda al virus a desarrollar la cápside y la estructura viral completa de manera apropiada y la última ayuda a la unión del virus a las células del huésped (11)

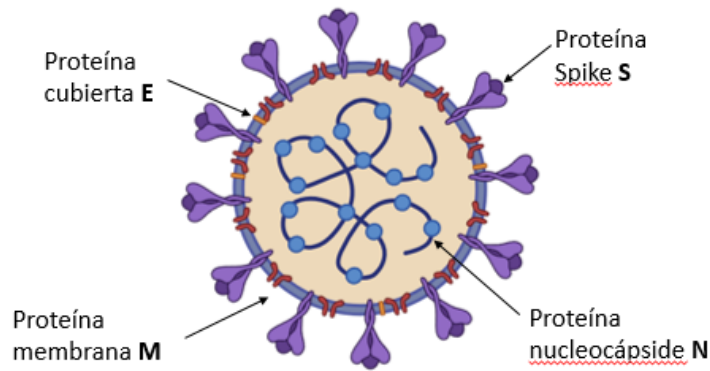


Figura 1: SARS-CoV-2 y sus proteínas de superficie. Fuente: elaboración propia a través de *BioRender*®.

3.3.2 Variantes del SARS-CoV-2

Todos los virus cambian con el paso del tiempo, y también lo hace el SARS-CoV-2, el virus causante de la COVID-19 (12). La mayoría de los cambios que se producen en los virus tienen escaso o nulo efecto sobre las propiedades del mismo virus. Sin embargo, algunos cambios pueden influir sobre algunas de ellas, como por ejemplo su facilidad de propagación, la gravedad de la enfermedad asociada y la capacidad de activación de respuesta inmunitaria o inflamatoria, la eficacia de las vacunas, los medicamentos para el tratamiento, los medios de diagnóstico u otras medidas de salud pública y social.

La propagación pandémica del SARS-CoV-2 ha dado lugar a la generación de decenas de miles de secuencias del genoma del virus. La tasa de generación de estos genomas, tan rápida y voluminosa, hacía que no existiese un criterio universal ni aceptado para nombrar la diversidad filogenética en expansión del SARS-CoV-2. Y es necesario buscar una nomenclatura de virus racional y dinámica que utilizase un marco filogenético para identificar aquellos linajes que más contribuyen a la propagación activa. Se han propuesto varias nomenclaturas diferentes para esta clasificación. GISAID (Global Initiative on Sharing All Influenza Data)(13) es una iniciativa de ciencia global (alianza público-privada sin ánimo de lucro) establecida en 2008 que proporciona acceso abierto a datos genómicos de virus. Desde su establecimiento, está reconocida para incentivar el intercambio rápido de datos de brotes en la pandemia de H1N1 en 2009, la pandemia de H7N9 en 2013, y de la pandemia de

COVID-19 en 2020. Así pues, hasta diciembre de 2020, GISAID se refería al SARS-CoV-2 como hCoV-19 y dentro de los 27.767 genomas analizados, identificó siete clados (O, S, L, V, G, GH y GR) (14).

Las definiciones de clado en GISAID se aumentan con linajes más detallados, asignados por la herramienta filogenética de asignación de nombres globales de brote global (PANGOLIN, Phylogenetic Assignment of Named Global Outbreak Lineages) que es un software desarrollado por miembros del Rambaut Lab, cuyo propósito es implementar una nomenclatura dinámica de los linajes del SARS -CoV-2 (15).

En junio de 2020 se creó el Grupo de Trabajo de la OMS sobre Evolución Viral, centrado específicamente en las variantes del SARS-CoV-2, su fenotipo clínico y el impacto de las contramedidas con el objetivo de monitorear su efecto en la población. La aparición de variantes que suponían un mayor riesgo para la salud pública mundial, a finales de 2020, hizo que la OMS empezara a caracterizar algunas de ellas como «variantes de interés» (VOI, por sus siglas en inglés) y «variantes preocupantes» (VOC, por sus siglas en inglés), con el fin de establecer prioridades en el seguimiento y la investigación a escala mundial, así como de orientar y adecuar la respuesta a la COVID-19. A partir de mayo de 2021, la OMS (16) empezó a asignar denominaciones sencillas y fáciles de pronunciar a las variantes clave: Alpha (B.1.1.7): descrita en el Reino Unido (RU) a fines de diciembre de 2020; Beta (B.1.351): Sudáfrica, diciembre de 2020; Gamma(P.1): Brasil, enero de 2021; Delta (B.1.617.2): India, diciembre de 2020; Omicron (B.1.1.529): Sudáfrica, noviembre de 2021 (17). Estas clasificaciones son importantes porque dan pie a la conocida como epidemiología genómica, que intenta obtener datos de rastreo y correlación clínica de variante-infección.

Con el fin de simplificar la generación de datos y conocimiento, se han desarrollado diferentes herramientas que intentan establecer un mapa de datos epidemiológicos del virus por el mundo, en tiempo real, y de forma sencilla. Nextstrain es un proyecto de código abierto creado por biólogos bioinformáticos, para aprovechar el potencial científico y de salud pública de los datos de genomas de patógenos. Puede ser usado en la salud pública, ya que muestra datos en tiempo real de las epidemias y su

distribución geográfica. Se puede usar para dar seguimiento a los brotes como es el caso del COVID-19.

Se habla de mutación cuando ocurre un cambio en la secuencia de nucleótidos que conforman el genoma del virus. Se reconocen cientos de combinaciones específicas de mutaciones y deleciones, que han dado lugar a las diferentes variantes.

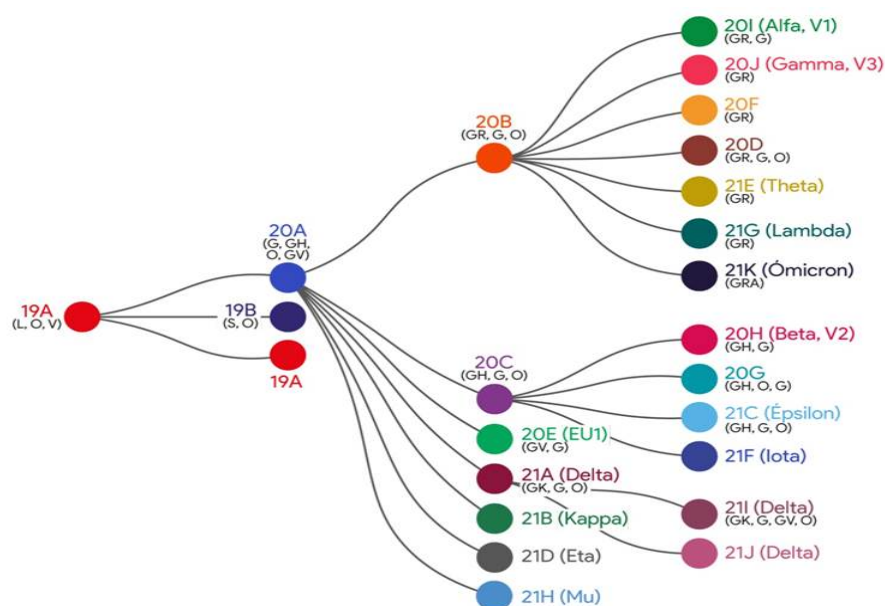


Figura 2. Terminología genómica utilizada con frecuencia para referirse a los distintos niveles de organización del SARS-CoV-2. Relación filogenética de clados del SARS-CoV-2, según las definiciones de Nextstrain (clados en color) y GISAID (clados entre paréntesis y en orden descendente de frecuencias observadas). Fuente: Datos hasta diciembre del 2021. Adaptada de Nextclade. Nextstrain. 2021. (18)

Estas mutaciones aumentan la capacidad de transmisión/infectividad del virus afectando también negativamente los niveles de respuesta inmune de los anticuerpos neutralizantes. Por ejemplo, se ha visto que la combinación del/D614G/ E484Q en la variante Delta parece ser que conduce a la COVID-19 a un fenotipo de enfermedad específico (18). Algunas mutaciones afectan al motivo de unión al receptor de la proteína spike del SARS-CoV-2 (RBM), el cual es una región altamente variable de la

proteína S. Aquí se ha descrito una mutación llamada N439K. Se ha demostrado que la proteína N439K tiene mayor afinidad de unión al receptor ACE2, y los virus que poseen N439K tienen similares propiedades in vitro, capacidad de replicación y capacidad de causar infecciones con resultados clínicos similares a los comparados con la variante tipo salvaje. Además, N439K confiere resistencia contra varios anticuerpos monoclonales neutralizantes aprobados por la FDA para el tratamiento de la COVID-19 (19).

La variante ómicron se caracteriza por una combinación de muchas mutaciones, deleciones y algunas de las cuales son nuevas y no se habían descrito antes. Potencialmente, esta nueva variante está asociada con una alta transmisibilidad que conduce a una infectividad elevada y probablemente a un aumento de las tasas de reinfección. Su impacto en la morbilidad/mortalidad sigue bajo investigación, pero a razón de los estudios epidemiológicos de infección por SARS-CoV-2 en pacientes pediátricos hasta la fecha, parece confirmar una alta tasa de infección entre la población, pero con una menor virulencia/agresividad (medido por tasas de hospitalización/ingresos en UCI-P) que variantes anteriores (20). Relan P. *et al.* (21) en un meta-análisis sobre la gravedad clínica de las variantes de SARS-CoV2, concluyen que la variante Omicron se asoció con un menor riesgo de hospitalización, ingreso en la UCI, oxigenoterapia, ventilación y muerte en comparación con el período Delta. En línea con estas conclusiones, Bouzid D. *et al.* (22) en París, concluye que la infección con la variante Omicron en pacientes pediátricos tenía diferentes patrones clínicos y biológicos y se asoció con mejores resultados hospitalarios, incluida una mayor supervivencia, en comparación con la variante Delta. Por el contrario, en Canadá, no se encontraron diferencias en porcentajes de hospitalización e ingreso en la unidad de cuidados intensivos al comparar periodos entre las variantes reflejadas (23).

3.3.3 Estructura y replicación

El SARS-CoV-2 se une con su proteína S (RBD/S1 pre-fusión) al receptor de la célula huésped, ACE2, lo que impulsa el cambio conformacional en la subunidad S2 (post-fusión) y, por lo tanto, facilita su fusión con la membrana plasmática (**Figura 3**).

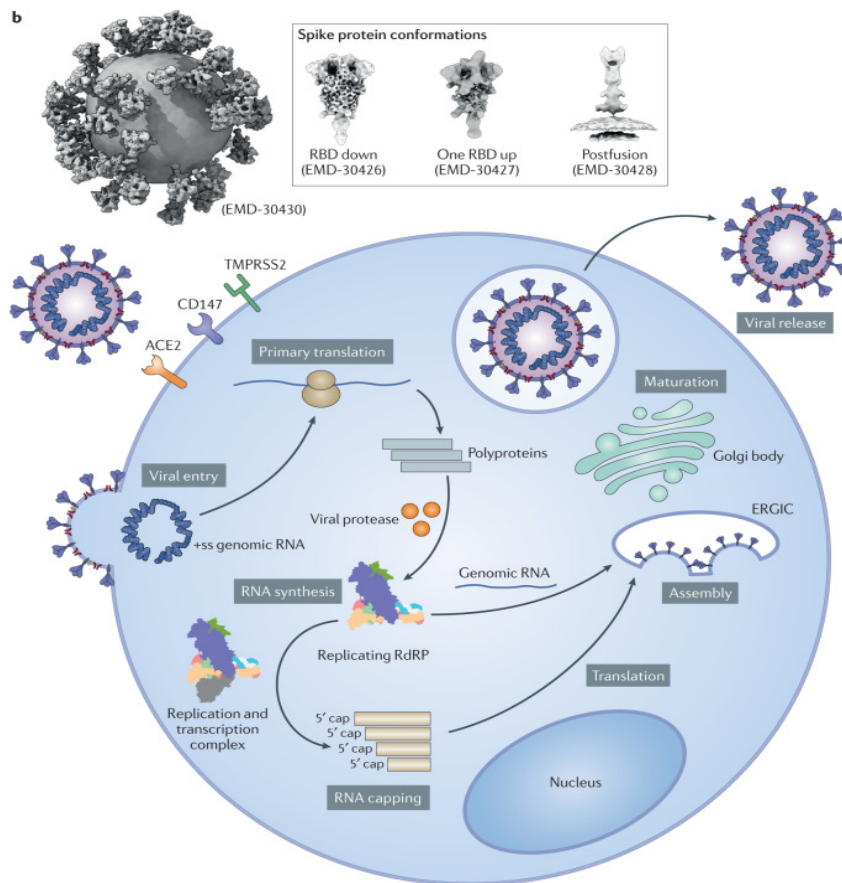


Figura 3: El ciclo de vida del SARS-CoV-2, incluida la entrada viral, replicación y transcripción, ensamblaje y liberación. En la estructura nativa del SARS-CoV-2, las proteínas S pueden tener una configuración prefusión y posfusión. Fuente: Yang H. *et al.* Nat Rev Microbiol 2021. (24,25)

El receptor ACE2 (enzima convertidora de angiotensina II) es una peptidasa que encontramos en la superficie de las células epiteliales pulmonares, pero también puede expresarse en otros tejidos (el endotelial, intestinal, renal) (20). Su principal función es convertir la angiotensina II (un péptido que provoca vasoconstricción), en angiotensina 1-7 (un vasodilatador), jugando así un papel fundamental en el control de la presión arterial. Se ha visto que este receptor es el responsable de la entrada del SARS-CoV-2 a las células huésped, que provocarán la enfermedad COVID-19. Aunque es muy posible que existan otros receptores para la entrada de virus en diferentes tipos de células. Recientemente se ha demostrado que otro receptor-CD147, también llamado basigina, actúa como receptor para el SARS-CoV-2 en líneas celulares de origen epitelial (21). Para penetrar en las células, el coronavirus interactúa con la serina-proteasa transmembrana (TMPRSS2) ubicadas en la superficie celular del huésped.

3.3.4 Epidemiología

El SARS-CoV-2 se transmite a través de pequeñas gotas de saliva que se emiten al hablar, estornudar o respirar (25). Esta es la vía principal de transmisión, aunque también se transmite por contacto con superficies u objetos contaminados, utilizando la vía fecal-oral para su entrada al organismo. En condiciones experimentales, el SARS-CoV-2 es estable y viable en superficies y puede detectarse hasta 72 horas después de la inoculación(26). Además, estudios epidemiológicos han detectado SARS-CoV-2 en materia fecal de pacientes infectados (27).

Las infecciones por coronavirus se detectan en picos estacionales epidémicos cada 2-3 años, infectando a personas de todas las edades, siendo las reinfecciones muy frecuentes (28). Circulan principalmente entre animales, pero han presentado cambios que les han permitido infectar a los humanos (zoonosis), como se ha visto en el SARS-CoV (brote en el sur de China en noviembre del 2002), MERS-CoV (brote en Asia, Europa, África y Norte América en 2012) y como se teoriza también con el origen del propio SARS-CoV-2 (9)

En España, la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE) elabora un informe sobre la situación epidemiológica de la COVID-19 en los diferentes periodos de la pandemia. Este informe contiene el análisis de los casos COVID-19 notificados por las CCAA a la Red, a través de la plataforma SiViES (Sistema para la Vigilancia en España), que gestiona el Centro Nacional de Epidemiología (CNE) conforme a los criterios establecidos en el protocolo de vigilancia en cada momento desde el inicio de la pandemia.

Desde el inicio de la pandemia se han notificado a la RENAVE 653.213 hospitalizaciones, 55.099 ingresos en UCI y 118.518 defunciones con COVID-19. Si analizamos a la población < 19 años, encontramos 16.249 hospitalizaciones, 817 ingresos en UCI y 60 defunciones (29).

Hasta el 13 de mayo de 2022 se han identificado en España seis periodos epidémicos de COVID-19, obtenidos analizando la evolución de las tasas de incidencia en toda la población (30).

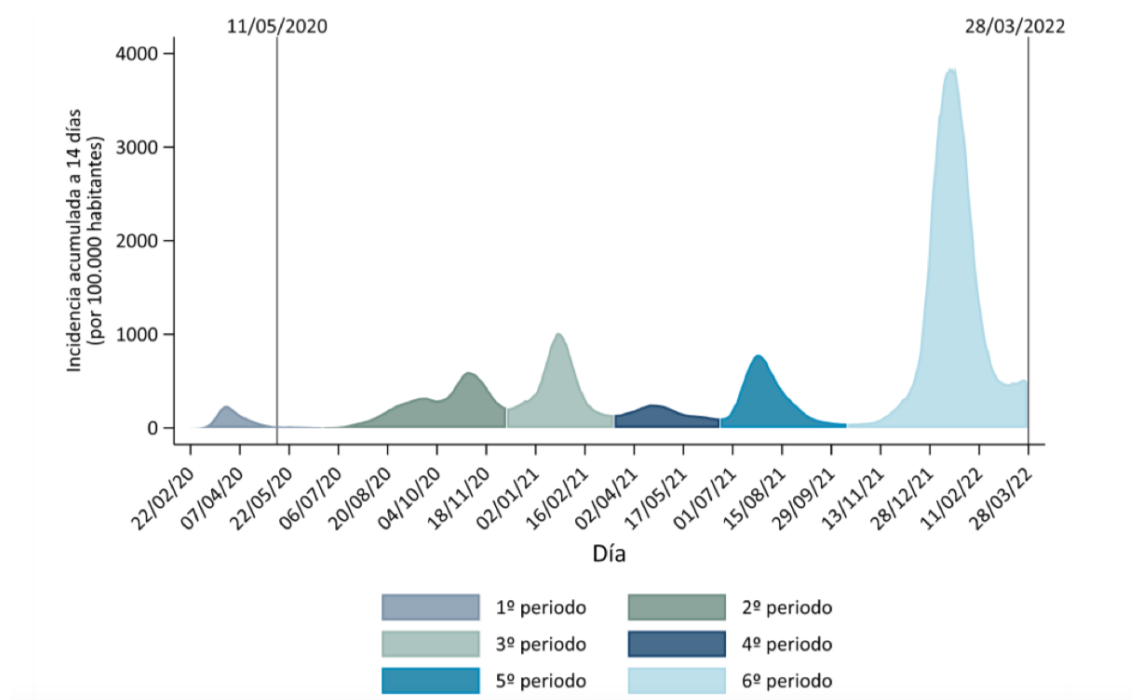


Figura 4. Periodos epidémicos de COVID-19 en España hasta el 28 de marzo de 2022 para toda la población (1º-6º periodos pandémicos). Fuente: Situación de COVID-19 en España a 18 de octubre de 2022. Equipo COVID-19. RENAVE. CNE. CNM (ISCIII). (30)

- Primer periodo: Desde el inicio de la pandemia hasta el 21 de junio de 2020, fecha en la que se terminó el estado de alarma en España una vez finalizada la primera ola epidémica de COVID-19.
- Segundo periodo: Desde el 22 de junio hasta el 6 de diciembre de 2020, punto de inflexión de la incidencia acumulada (IA) a 14 días de casos de COVID-19, entre el segundo y el tercer periodo epidémico.
- Tercer periodo: Desde el 7 de diciembre de 2020 hasta el 14 de marzo de 2021, punto de inflexión de la IA a 14 días de casos de COVID-19, entre el tercer y el cuarto periodo epidémico.

- Cuarto periodo: Desde el 15 de marzo de 2021 hasta el 19 de junio, punto de inflexión de la IA a 14 días de casos de COVID-19, entre el cuarto y el quinto periodo epidémico.
- Quinto periodo: Desde el 20 de junio de 2021 hasta el 13 de octubre, punto de inflexión de la IA a 14 días de casos de COVID-19, entre el quinto y el sexto periodo epidémico.
- Sexto periodo: Desde el 14 de octubre de 2021 hasta el 27 de marzo de 2022, el día previo a la entrada en vigor de la nueva estrategia de Vigilancia.

ENE-COVID es un amplio estudio longitudinal sero-epidemiológico, de base poblacional, cuyos objetivos eran estimar la prevalencia de infección por SARS-CoV-2 mediante la determinación de anticuerpos frente al virus en España, con desagregación a nivel autonómico y provincial, y evaluar su evolución temporal. En uno de sus primeros informes de resultados (primera ronda, fechas: 27/04-11/05, 18/05-01/06 y 08/06-22/06), concluye que los niños menores de 10 años presentaban una seroprevalencia significativamente menor que los adultos: <1 año fue de un 1.1% (IC 95% 0,3%-3,8%), 1-4 años fue de un 2,2 % (IC 95% 1,4%-3,6%), 5-9 fue de un 3% (IC 95% 2,3-4,1%) frente a un 3,9 % (IC 95% 3.1%-4,9%) del grupo 10-14 años y de un 5,2% (IC 95%: 4,9%-5,5%) para la población general (31). Resultados parecidos se han observado en otros países, por ejemplo en Ginebra (Suiza, Posfay-Barbe *et al.* (32)), donde se encontró que los niños pequeños parecen tener una menor seroprevalencia que los adultos, y un menor riesgo de padecer consecuencias graves si se infectan. La mayoría de los estudios de cribado de población son consistentes con una menor seroprevalencia en niños respecto a adultos, aunque la seroprevalencia de los adolescentes es similar a la de los adultos.

3.3.5 Clínica y fisiopatología

Todos los humanos son susceptibles de ser infectados, aunque las formas clínicas de presentación varían en función de características del huésped (edad, sexo, raza, comorbilidades sobre todo a nivel inmunológico y cardiovascular). El espectro clínico de COVID-19 varía desde formas asintomáticas o paucisintomáticas hasta

enfermedades clínicas de gravedad. En adultos, de forma primaria produce una infección pulmonar/neumonía, que puede complicarse con afectación multiorgánica afectando al sistema cardiovascular, gastrointestinal, neurológico, hepatobiliar, renal y sistema nervioso central. Esta afectación sistémica probablemente sea de causa multifactorial como es la toxicidad viral directa, la lesión isquémica causada por vasculitis, la trombosis o la trombo-inflamación, la desregulación inmunitaria y la respuesta inflamatoria exagerada (33,34).

No solo los adultos, sino también los niños de todas las edades pueden ser infectados por el SARS-CoV-2. La mayoría de los casos confirmados en niños infectados se atribuyen al contacto con un familiar infectado (35). La tasa de incidencia de casos pediátricos de COVID-19 oscila entre el 1 % y el 5 % de todos los casos de COVID-19 en todo el mundo. Sin embargo, es probable que esta tasa esté subestimada, dada la alta proporción de casos leves sintomáticos y asintomáticos infra diagnosticados (36).

Actualmente, se desconoce el motivo por el que los pacientes pediátricos presentan formas asintomáticas o leves de COVID-19, y sólo excepcionalmente formas graves de la enfermedad. Algunas de las explicaciones podrían justificarse por: mayores títulos de anticuerpos neutralizantes (protección cruzada por coronavirus o por otros virus respiratorios), menor expresión de receptores ECA2 en mucosas (lo que impide la entrada y replicación del virus), respuesta inmune innata más eficaz (respuesta inmune adaptativa menos específica pero más inmediata), competencia de SARS-CoV-2 y otros virus en el tracto respiratorio, o diferencias en la microbiota respiratoria que cambia con la edad (37) En los niños más pequeños, los síntomas incluyen fiebre, tos, congestión nasal, odinofagia, astenia, cefalea y síntomas gastrointestinales (38). Aunque los niños tienen una distribución similar de los síntomas iniciales en comparación con los adultos, éstos tienen más probabilidades de tener síntomas leves que se resuelven por sí mismos sin progresión a la enfermedad pulmonar inferior que requiere hospitalización (2) (39)

3.3.6 Fisiopatología de la infección por SARS-CoV-2 e inmunidad

El sistema inmune es capaz de controlar adecuadamente la infección por el SARS-CoV-2 en la mayoría de pacientes, tanto adultos como niños, cursando de forma asintomática o con sintomatología moderada. Sin embargo, algunos de los pacientes infectados sufren una enfermedad grave en estadios iniciales de la infección, y otros pueden manifestarla a las 2-3 semanas del proceso agudo (sobre todo los niños). Es por ello que se cree que el virus SARS-CoV-2 es capaz de alterar profundamente el comportamiento de las herramientas moleculares y celulares del sistema inmune (40)

Tras un primer contacto con el virus, las decisiones iniciales del sistema inmune innato son responsables de una correcta o inadecuada respuesta adaptativa y, junto con las comorbilidades, están directamente asociadas a la progresión de la patología (41).

Consecuentemente, la gravedad presentada por los enfermos de la COVID-19 es, en parte, debida a la infección por el virus, a las comorbilidades, al envejecimiento del sistema inmune, pero también es debida a la heterogénea respuesta del sistema inmune de cada individuo ante el mismo. Existen datos limitados sobre la respuesta inmune del SARS-CoV-2 en niños. En este apartado se presentará, de forma resumida, la evidencia actual sobre las respuestas inmunes innatas, humores y celulares a la infección por SARS-CoV-2 (42–44). Esto servirá de base para poder entender el estudio de la respuesta inmune en el fenómeno inflamatorio post-infeccioso (MIS-C).

A continuación, se muestra la **Figura 5** publicada por Tay MZ, *et al.* (42) que ilustra la cronología de eventos durante la infección por SARS-CoV-2. Cuando el SARS-CoV-2 infecta células que expresan los receptores de superficie enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) y TMPRSS2, la replicación se activa y la liberación del virus hacen que la célula huésped sufra piroptosis y libere patrones moleculares asociados al daño, incluidos ATP, ácidos nucleicos y oligómeros. Estos son reconocidos por las células epiteliales vecinas, las células endoteliales y los macrófagos alveolares, lo que

desencadena la generación de citoquinas y quimioquinas proinflamatorias (incluidas IL-6, IP-10, proteína inflamatoria de macrófagos 1 α (MIP1 α), MIP1 β y MCP1). Estas proteínas atraen monocitos, macrófagos y células T al sitio de la infección, promoviendo una mayor inflamación (con la adición de IFN- γ producido por las células T) y estableciendo un circuito de retroalimentación proinflamatorio.

En una respuesta inmune competente (lado derecho), la inflamación inicial atrae células T específicas del virus al lugar de la infección, donde eliminan las células infectadas antes de que el virus se propague. Los anticuerpos neutralizantes en estos individuos pueden bloquear correctamente la infección viral, y los macrófagos alveolares reconocen los virus neutralizados y las células apoptóticas y los eliminan por fagocitosis. En conjunto, estos procesos conducen a la eliminación del virus y al daño pulmonar mínimo, y gracias a este buen funcionamiento del proceso, se produce una rápida recuperación con el mínimo daño asociado.

En una respuesta inmunitaria defectuosa (lado izquierdo), esto puede conducir a una mayor acumulación de células inmunitarias en los pulmones, lo que provoca una sobreproducción de citoquinas proinflamatorias, que colateralmente dañan la infraestructura pulmonar. La tormenta de citoquinas resultante circula a otros órganos, lo que provoca daños a distancia. Además, los anticuerpos no neutralizantes producidos por las células B pueden empeorar la infección por SARS-CoV-2 a través de la amplificación de la respuesta inmune (ADE), lo que exacerba aún más el daño orgánico.

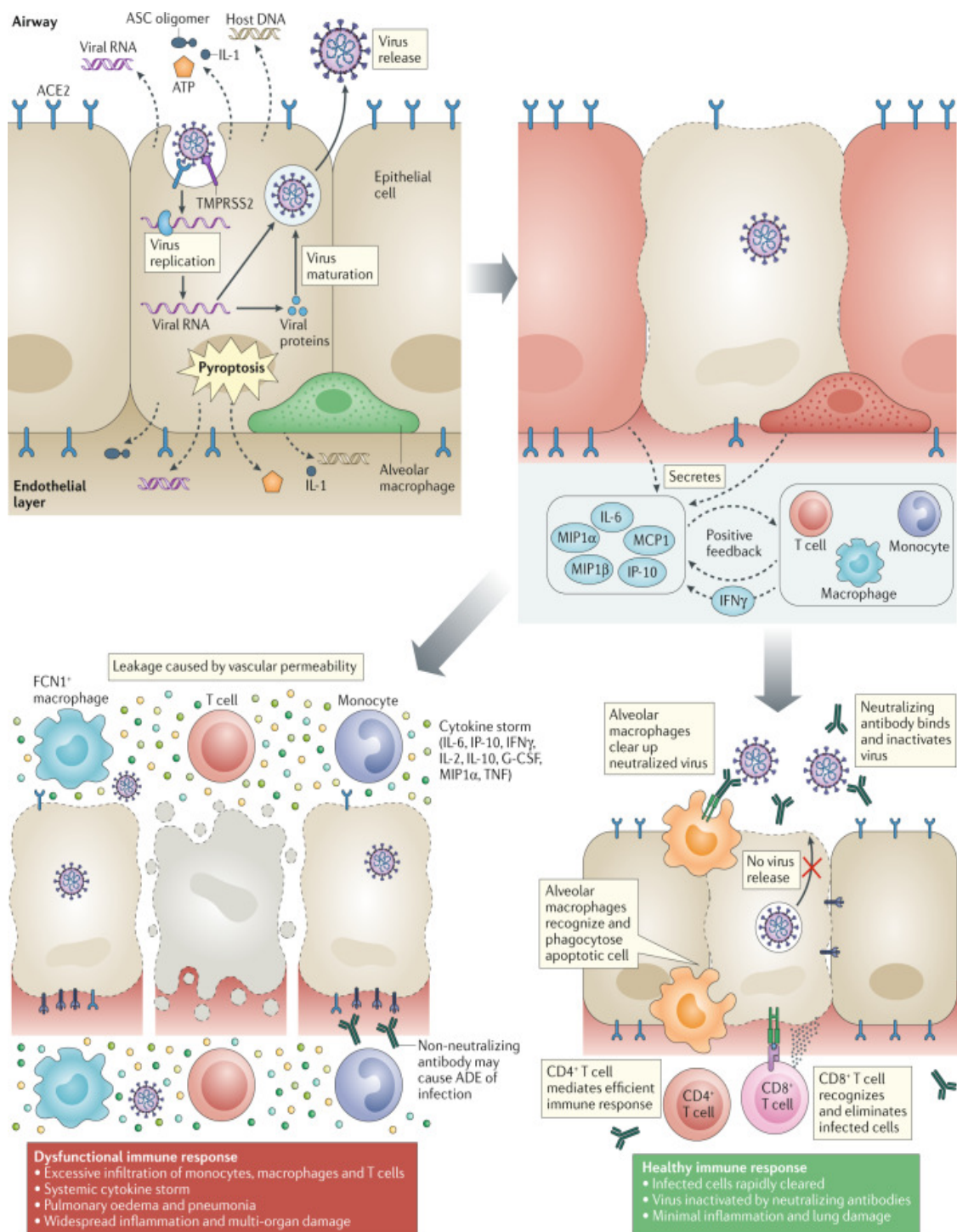


Figura 5: Cronología de eventos durante la infección por SARS-CoV-2. Respuesta inmune competente (lado derecho). Respuesta inmune defectuosa (lado izquierdo). Fuente: Tay MZ. *et al.* Nat Rev Immunol. 2020(42).

3.3.6.1 Respuesta immune en las mucosas

A medida que el SARS-CoV-2 infecta inicialmente el tracto respiratorio superior, se activa la respuesta inmunitaria de la mucosa de la nasofaringe, incluidas las amígdalas y las adenoides (44). Se conoce que los anticuerpos IgA desempeñan un papel protector en la inmunidad de la mucosa del tracto respiratorio superior e inferior al eliminar la replicación viral reduciendo el riesgo de reinfección (45). Estudios han establecido que la elevación de los niveles de anticuerpos IgA circulantes en pacientes adultos hospitalizados con COVID-19 se ha asociado con un peor pronóstico y un aumento de tasas de mortalidad (46).

En pacientes con MIS-C, Gruber *et al.* (47) destacaron el papel crucial de la inmunidad de las mucosas en el SARS-CoV-2 al investigar su papel en 9 pacientes con MIS-C. Curiosamente, en pacientes MIS-C los títulos de anticuerpos IgA permanecen elevados en la fase de convalecencia de la enfermedad con niveles comparables a la fase aguda.

3.3.6.2 Inmunidad Humoral

La respuesta de anticuerpos en pacientes infectados por SARS-CoV-2 sigue siendo en gran medida desconocida. Tras la infección por el SARS-CoV-2 la mayoría de los pacientes desarrollan anticuerpos séricos detectables contra el dominio de unión al receptor (RBD) de la proteína S a partir de los cuatro u ocho días siguientes a la aparición de los síntomas. Las características y duración de la respuesta inmune de los pacientes pediátricos frente al SARS-CoV-2 son aún menos conocidas (48).

Zaho *et al.* (49) realizaron un estudio donde incluyeron un total de 173 pacientes con infección por SARS-CoV-2. Se analizaron anticuerpos totales, IgM e IgG contra SARS-CoV-2 mediante ELISA. Los resultados publicados demostraron una respuesta típica de anticuerpos a la infección viral aguda. Primero se detectó el anticuerpo total, seguido de IgM e IgG, con una tasa de seroconversión para anticuerpos totales, IgM e IgG del 93,1%, 82,7% y 64,7%, respectivamente. Todos los pacientes presentaron seroconversión, excepto 12. Los títulos de anticuerpos de SARS-CoV-2 aumentan en el

día 7, estableciéndose una meseta en el día 14 después de los síntomas de inicio de infección de SARS-CoV-2, desconociéndose el ritmo de descenso posterior (50).

Después de la infección por SARS-CoV-2, la mayoría de los pacientes desarrollarán anticuerpos detectables contra el dominio de unión al receptor (RBD) de la proteína S viral con actividad neutralizante(51–54). Estas respuestas consisten en una producción inicial de anticuerpos de inmunoglobulina M (IgM), y posteriormente incremento sérico de IgA e IgG. Los anticuerpos IgG suelen detectarse entre 16 y 20 días después de la infección en aproximadamente casi más del 90% de los pacientes(51,55). No obstante, se desconoce la tasa de seroconversión de la infección por SARS-CoV-2 en niños, particularmente entre aquellos con infección asintomática o leve (48). Estos anticuerpos pueden persistir durante al menos 6-12 meses en adultos, en niños todavía existen pocos datos al respecto (56–59). Toh *et al.* (60) demostraron que los niños muestran una menor tasa de seroconversión que los adultos a pesar de tener infección confirmada por PCR y cargas virales comparables.

Se desconocen los motivos que se relacionan con la seroconversión después de una primo-infección, y el establecimiento de una inmunidad perecedera o no en el tiempo. Los estudios anteriormente citados de seroconversión corresponden a cohortes estudiadas cuando circulaba el virus ancestral Wuhan SARS-CoV-2 en 2020. Es importante señalar que, probablemente, la respuesta inmunológica también varíe en función de la cepa del propio virus (61).

Hasta el momento, se desconoce si la tasa de seroconversión que es más baja en niños en estudios con esta variante, también se observa ese mismo fenómeno con las variantes SARS-CoV-2 delta u ómicron. La variante delta se ha asociado con una carga viral 1000 veces mayor en comparación con la cepa de Wuhan (49) por lo que se podría esperar una mayor tasa de seroconversión en niños, mientras que otros estudios han demostrado que ómicron es incluso más infeccioso que la variante delta (62).

Estudios recientes mostraron que menos del 50% de los pacientes adultos desarrollaron anticuerpos neutralizantes (NABs) en la fase aguda de la infección con una mediana de tiempo de 36 días. Hay estudios que indican que la producción de NAB depende en gran medida de la exposición a la carga viral y de la gravedad de la enfermedad (63).

Los niños a menudo experimentan una sólida producción de anticuerpos dentro de las primeras 3 semanas posteriores a la infección y un tiempo estimado de seroconversión a anticuerpos IgG en la primera semana (64,65). En un estudio pediátrico de seroprevalencia Posfay-Barbe KM *et al.* (32) estudiaron 208 niños, descubriendo que los comprendidos entre los 10-16 años tienen 2-3 veces más títulos de anticuerpos que los niños menores de 10 años.

Las subclases de IgG también parece que se correlacionan con el grado de severidad de la infección en adultos. En un estudio de análisis serológicos de trabajadores de la salud convalecientes, Yates *et al.* exploran los perfiles de anticuerpos asociados con la gravedad de COVID-19. Su análisis revela una proporción de subclases de IgG3 aumentada en pacientes con COVID-19 grave (66).

3.3.6.3 Inmunidad Celular

Las respuestas de las células T juegan un papel importante en la eliminación de las infecciones virales, ya sea neutralizando directamente las células infectadas o instrumentando la memoria inmunológica.

A pesar de la disminución de los niveles de anticuerpos séricos en pacientes que se recuperaron de SARS o MERS, la inmunidad mediada por células todavía estaba presente al menos 10 años después de la infección (67). Es pronto, pues, para conocer la duración real de la inmunidad humoral o celular en la infección por SARS-CoV-2.

Braun *et al.* (68) analizaron la respuesta celular y humoral en pacientes sanos no infectados por SARS-CoV-2 pacientes con COVID-19, y encontraron respuestas de

células T CD4+ reactivas al SARS-CoV-2 en individuos no expuestos. Esto sugiere un reconocimiento cruzado de epítomos de antígenos comunes entre el SARS-CoV-2 y otros coronavirus endémicos.

3.3.6.4 Respuesta inflamatoria: citoquinas.

En el contexto de la respuesta inflamatoria post-infecciosa, las citoquinas juegan un papel crucial en la regulación de la respuesta inflamatoria y están implicadas en la activación del sistema inmunitario. Las citoquinas son proteínas de señalización que actúan como mensajeros entre las células del sistema inmunitario y regulan la inflamación, la inmunidad y otras respuestas biológicas. Las acciones principales de las citoquinas desarrollan procesos como la proliferación, maduración, diferenciación, migración, quimiotaxis e incluso la apoptosis. Son secretadas principalmente por células del sistema inmunológico innato y adaptativo, aunque también algunas son producidas por otros tipos celulares, que generalmente son las que sufren la agresión de la colonización microbiana como pueden ser de los epiteliales fibroblastos o el propio endotelio vascular.

Hay diferentes tipos de receptores de citoquinas los cuales se diferencian no solamente por la conformación estructural sino también por los distintos mecanismos de señalización intracelular que utilizan (69). Estructuralmente, son moléculas heterodiméricas transmembranarias, y se clasifican como:

- Los de tipo I (hematopoyetinas) son el receptor para la mayoría de ligandos de clase interleucinas y factores de crecimiento hormonal como IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, IL-21, IL-23, IL-27, GM-CSF, G-CSF, CNTF, prolactina, hormona de crecimiento.
- Los de tipo II o receptores de Interferones: IFN-alfa, IFN-beta, IFN gamma, y algunas interleucinas IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, IL-28, IL-29.
- Los de tipo III o receptores superfamilia del factor de necrosis tumoral (TNF): sus ligandos son TNF-Alfa, TNF-beta, CD27L, CD30L, CD40L, NGF, FAS, que activan funciones en su mayoría de apoptosis y muerte celular.

- Los de tipo IV o tipo inmunoglobulina: destacaremos como ligandos la IL-1 y la IL-18 porque son citocinas pro-inflamatorias y muy importantes en la la inmunidad innata.
- Tipo V o receptores de quimiocinas: sus ligandos son IL-8, RANTES, MIP-1, PF4, MCAF, NAP-2.
- Tipo VI o receptores de IL-17.

De la interacción entre los ligandos y sus receptores, se establecerán las relaciones de activación o inhibición de los procesos celulares anteriormente comentados (desplazamiento, división celular, maduración, apoptosis...). La presencia de citoquinas en el microambiente induce o inhibe la aparición de receptores, y las citocinas pueden compartir diferentes receptores y potenciarse o inhibirse actuando en simbiosis. Todo este microambiente supone un escenario muy complejo de procesos que están en continua investigación.

Al igual que en otros procesos inflamatorio-infecciosos y en la en la enfermedad de Kawasaki, varias citoquinas han sido estudiadas en relación con el MIS-C, y se ha encontrado que muchas de ellas están elevadas en pacientes con esta afectación, lo que sugiere una respuesta inflamatoria desregulada.

Algunas de las citoquinas más relevantes en el contexto del MIS-C incluyen (70):

1. Interleucinas (IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A): se han encontrado elevadas en pacientes con MIS-C. (71). Juegan un papel importante en la regulación de la inflamación y se ha asociado con la gravedad de la enfermedad (72,73).
2. Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α): Al igual que la IL-6, el TNF- α es una citoquina proinflamatoria que también se ha encontrado elevada en el MIS-C (74) .
3. Interferón gamma (IFN- γ): Al igual que en la enfermedad de Kawasaki, el IFN- γ también se ha encontrado elevado en algunos pacientes con MIS-C (75).

El aumento de estas citoquinas y otras moléculas inflamatorias en el MIS-C puede contribuir a la inflamación generalizada y a las manifestaciones clínicas características de la enfermedad. Sin embargo, se necesita más investigación para comprender el

papel específico de estas citoquinas en la patogénesis del MIS-C y cómo pueden influir en el curso y la gravedad de la enfermedad.

3.3.7 Métodos diagnósticos

Igual que la metodología que se utiliza para el diagnóstico de otras infecciones virales, disponemos de métodos directos de detección del virus en la muestra (cultivo celular, técnicas de detección de antígeno y métodos moleculares como la PCR) y los métodos indirectos (como es la medida de la respuesta serológica).

3.3.7.1 Métodos directos de detección del virus

Igual que la metodología que se utiliza para el diagnóstico de otras infecciones virales, disponemos de métodos directos de detección del virus en la muestra (cultivo celular, técnicas de detección de antígeno y métodos moleculares como la PCR) y los métodos indirectos (como es la medida de la respuesta serológica).

3.3.7.1.1 Reacción en Cadena de la Polimerasa.

La detección de ARN viral basada en la reacción de *real time*-PCR (RT-PCR) se considera una prueba “*gold standard*” para el diagnóstico molecular de infecciones virales y bacterianas con alta sensibilidad y especificidad.

Es de destacar que el rendimiento de la RT-PCR depende de muchos factores, como los tipos de muestra, el tiempo en la cinética de eliminación del virus, las diferentes etapas de la infección en los pacientes, la habilidad de la recolección de muestras y la calidad y consistencia de los ensayos de PCR que se utilizan (76). Sin embargo, la especificidad de la mayoría de los ensayos comerciales de PCR de SARS-CoV-2 aprobados por la FDA es de casi el 100 %, siempre que no haya contaminación cruzada durante el procesamiento de la muestra.

3.3.7.1.2 Técnicas de detección de antígenos

Las pruebas de antígeno del SARS-CoV-2 son menos sensibles pero tienen un tiempo de respuesta más rápido en comparación con las pruebas de PCR molecular (3).

Permiten detectar pequeñas proteínas de membrana del virus (proteína S o la de la nucleocápside), y que están presentes en las muestras de pacientes con infección por SARS-CoV-2. Al extraer la muestra (nasofaríngeas, bucofaríngeas o nasales), ésta se debe colocar en una solución que contiene anticuerpos, que se unirán a los antígenos presentes en las muestras que resulten infectadas (positivas), dando lugar a una reacción química visible que se aprecia como una banda. Son test fáciles de hacer y rápidos (en 15 minutos tenemos el resultado)(77).

3.3.7.2 Métodos indirectos de detección de virus (respuesta serológica).

3.3.7.2.1 Tipos de anticuerpos en la respuesta por SARS-CoV-2

En la respuesta inmunitaria contra el SARS-CoV-2, se producen diferentes tipos de anticuerpos específicos que pueden ser analizados en pruebas de laboratorio. Los principales tipos de anticuerpos del SARS-CoV-2 que se pueden detectar son:

- IgM (inmunoglobulina M): Son los primeros anticuerpos que se producen en respuesta a una infección aguda por el virus. Los niveles de IgM aumentan durante las primeras etapas de la infección y disminuyen a medida que la infección se resuelve. La detección de IgM en una muestra de sangre indica una infección reciente o en curso.
- IgA (inmunoglobulina A): Los anticuerpos IgA se producen en las mucosas y pueden proporcionar protección en las vías respiratorias y otras superficies mucosas del cuerpo. La detección de IgA puede ser útil para identificar una infección activa en las membranas mucosas.
- IgG (inmunoglobulina G): Estos anticuerpos se generan más lentamente, pero proporcionan una inmunidad más duradera. Los niveles de IgG aumentan después de la fase aguda de la infección y pueden persistir en el cuerpo durante meses o incluso años después de la recuperación. La detección de IgG en una muestra de sangre indica una infección pasada y la presencia de una respuesta inmunitaria duradera.

En el contexto del SARS-CoV-2, la inmunoglobulina G (IgG) se presenta en varios subtipos, o isotipos, que se pueden analizar para comprender mejor la respuesta inmunitaria específica frente al virus (78). Los principales subtipos de IgG asociados con el SARS-CoV-2 son los siguientes:

- a) IgG total anti-SARS-CoV-2: Esta prueba detecta la presencia de anticuerpos IgG específicos contra proteínas del virus SARS-CoV-2 en general, sin distinguir subtipos específicos de IgG.
- b) IgG anti-Nucleocápside (anti-N): Este subtipo de IgG está dirigido contra la proteína de nucleocápside del virus, que es una de las proteínas principales del SARS-CoV-2. La prueba de IgG anti-Nucleocápside puede ayudar a detectar una infección pasada o en curso por el virus. Sólo están presentes en la infección natural por el virus y no tras la vacunación.
- c) IgG anti-Espícula (anti-S1, anti-S2): Los anticuerpos IgG dirigidos contra la proteína de espícula del virus son de interés debido a su papel en la entrada del virus a las células humanas. La proteína de espícula es el objetivo principal de muchas vacunas contra el SARS-CoV-2, y la medición de los anticuerpos IgG anti-S puede indicar la respuesta inmunitaria inducida por la vacunación o la infección natural.
- d) IgG anti-Receptor de Unión (anti-RBD): El dominio de unión al receptor (RBD) es una región específica de la proteína de espícula que es crucial para la unión del virus a las células huésped. Los anticuerpos IgG anti-RBD están dirigidos específicamente contra esta región. La medición de estos anticuerpos puede ser útil para evaluar la neutralización del virus y la respuesta inmunitaria frente al SARS-CoV-2.

Es importante destacar que las pruebas de detección de anticuerpos específicos pueden variar según el laboratorio y la tecnología utilizada (ELISA, inmunofluorescencia, quimioluminiscencia, pruebas de neutralización y pruebas rápidas de anticuerpos). Algunas pruebas pueden detectar solo un subtipo específico de IgG, mientras que otras pueden medir IgG total o múltiples subtipos.

3.3.7.2.2 Métodos diagnósticos de anticuerpos SARS-CoV-2 disponibles

Para detectar anticuerpos contra el SARS-CoV-2, se utilizan diferentes métodos de laboratorio que permiten identificar la presencia de inmunoglobulinas específicas generadas por el sistema inmunológico en respuesta a la infección por este virus (78,79). Los principales métodos para detectar anticuerpos contra el SARS-CoV-2 son los siguientes:

1. Prueba de inmunocromatografía (prueba rápida): Esta es una prueba rápida y sencilla que se puede realizar al momento. Se toma una muestra de sangre mediante un pinchazo en el dedo y se coloca en una tira reactiva. Si la muestra contiene anticuerpos contra el SARS-CoV-2, se produce una reacción que genera una línea de color en la tira. Es importante tener en cuenta que este tipo de prueba puede tener una sensibilidad y especificidad más bajas en comparación con otros métodos de laboratorio.

2. Inmunoensayo enzimático (ELISA): Esta técnica se utiliza para detectar anticuerpos específicos en la sangre. Se basa en la interacción entre los anticuerpos presentes en la muestra y antígenos del SARS-CoV-2 que se han fijado previamente a una placa de laboratorio. Si hay anticuerpos en la muestra, se unirán a los antígenos y luego se detectarán mediante una reacción enzimática que produce un cambio de color.

3. Prueba de quimioluminiscencia (CLIA: ChemiLuminescent Immuno Assay): Este es otro tipo de inmunoensayo que se basa en la detección de la luz emitida durante una reacción química específica. La muestra de sangre se mezcla con reactivos que permiten la detección de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 mediante la emisión de luz, que se cuantifica y se mide utilizando un dispositivo especializado.

4. Prueba de neutralización (ensayo de neutralización): Este es un método más complejo que evalúa si los anticuerpos presentes en la muestra son capaces de neutralizar la capacidad del virus para infectar células. Se toma una muestra de

suero sanguíneo y se mezcla con el virus SARS-CoV-2 en el laboratorio. Luego, se observa si los anticuerpos presentes en la muestra pueden prevenir la infección de células en cultivo.

3.3.7.2.3 Métodos de detección de citoquinas

La detección y medición de citoquinas en muestras biológicas se realiza mediante varias técnicas, cada una con sus ventajas y desventajas, y tienen sus aplicaciones específicas dependiendo del contexto de la investigación y los recursos disponibles.

Hoy en día, se encuentra disponible una amplia gama de ensayos de citoquinas, que incluyen; medición de niveles de citoquinas (directas) o niveles de receptores solubles de citoquinas (indirectas) en fluidos corporales o sobrenadantes celulares (inmunoensayos y bioensayos de citocinas), medición de citocinas producidas por una población de células (citometría de flujo multiparamétrica, cuantificación basada en perlas magnéticas de células productoras de citoquinas , ensayos basados en ARNm), medición de citocinas producidas por células individuales (inmunopunto ligado a enzimas (ELISPOT), tinción de citoquinas intracitoplasmáticas (ICC), ensayos basados en ARNm) y detección de citocinas en tejidos (inmunotinción) (80).

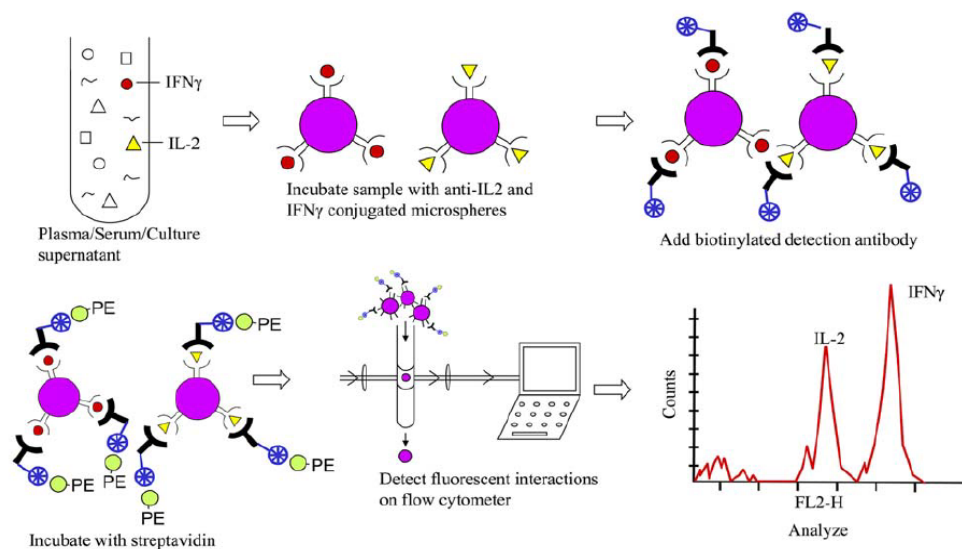


Figura 6. Detección por citometría de flujo de citoquinas en muestras biológicas. Fuente: Cytokine quantitation: technologies and applications. Sachsdeva et al. (80).

3.4 Síndrome Inflamatorio Multisistémico Pediátrico asociado a SARS-CoV-2

3.4.1 Definición. Contexto histórico

A finales de abril del 2020, el RCPCH (81) notificó la aparición de casos pediátricos relacionados con un nuevo síndrome inflamatorio con clínica de miocarditis y shock asociado a la infección por SARS-CoV-2. La identificación de casos similares se dio también rápidamente en otros países (España, Francia, Italia, EE. UU) a la vez que progresaba el número de casos de infección por SARS-CoV-2. Muchos de estos niños compartían características clínicas similares a la Enfermedad de Kawasaki, asociando una gravedad consistente en inestabilidad hemodinámica, miocarditis, fracaso respiratorio y necesidad de ingreso en Unidades de Cuidados Intensivos. Posteriormente, los CDC (82) y la OMS (5) publicaron los criterios de definición del síndrome reconocido como Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C) asociado a COVID-19.

Desde la primera descripción del Síndrome por parte de la RCPCH de Londres (29 de Abril 2020), existen cuatro definiciones del síndrome con criterios clínicos de inclusión diferentes en función del organismo sanitario que la define (RCPCH, WHO, CDC, CPS), que se describen a continuación (**Figura 7**). Estas definiciones son susceptibles de ser modificadas según se vaya ampliando el conocimiento de esta entidad, aunque la no uniformidad de los criterios en la práctica clínica dificulta la clasificación de los pacientes y la comparación de los resultados de los estudios publicados.

Volviendo a los inicios de nuevo (Junio del 2020) a nivel nacional, desde la Asociación Española, se promovió la generación de un Documento de consenso coordinado por el Dr. Alberto García Salido y por el Dr. Alfredo Tagarro sobre diagnóstico, estabilización y tratamiento del Síndrome inflamatorio multisistémico pediátrico vinculado a SARS-CoV-2 (en nuestro territorio conocido como SIM-PedS) en el que tuve la oportunidad de colaborar(83). Es un documento aglutinador de conocimiento basado en la mejor evidencia disponible en el momento de su redacción. Presenta una visión multidisciplinar, en el que intervienen profesionales que

pertenecen a las subespecialidades médicas españolas que tienen relación con este nuevo síndrome como son la Sociedad Española de Intensivos Pediátricos (SECIP), Sociedad Española de Reumatología pediátrica (SERPE), Sociedad Española de Infectología (SEIP), Sociedad Española de Pediatría Interna Hospitalaria (SEPIH), Sociedad Española de Cardiología Pediátrica y Cardiopatías Congénitas (SECPCC), Sociedad Española de Urgencias (SEUP). Se publicó el 27-07-2020 en la red, y finalmente en Anales de Pediatría.

El diagnóstico de MIS-C incluye la confirmación microbiológica de COVID-19 o, en su defecto, el contacto con un caso confirmado o sospechoso de COVID-19. Asimismo, es un diagnóstico de exclusión y deben ser descartadas otras patologías y/o patógenos que justifiquen la clínica (virus, cultivos bacteriológicos negativos, ASLO negativos). Se recomienda la búsqueda activa de otros patógenos respiratorios e intestinales (virus, bacterias) dada la posibilidad de coinfecciones, tan frecuentes sobre todo en los niños. Se recomienda también asimismo descartar complicaciones inmunológicas que se puedan dar en organismos predispuestos, como el síndrome de activación macrofágica, bajo persecución activa de los criterios que lo definen (hiperferritinemia, aumento de triacilglicéridos, citopenias, megalias). Cabe destacar que el MIS-C, puede presentarse con características clínicas solapables con la Enfermedad de Kawasaki (sobre todo la presencia de fiebre junto con conjuntivitis y exantema), e incluso con datos sugestivos de activación macrofágica secundaria.

En nuestro trabajo y nuestra investigación, hemos consensado utilizar los criterios diagnósticos de la WHO (definición de MIS-C). Estas definiciones son susceptibles de ser modificadas según se vaya ampliando el conocimiento de esta enfermedad.

Figura 7. Definiciones de Síndrome inflamatorio multisistémico temporalmente asociado a SARS-CoV-2 propuestos por la OMS, CDC y RCPCH

WHO(84) MIS-C	● Paciente <19 años con fiebre ≥ 3 días ● Y dos de los criterios siguientes: ● erupción cutánea o conjuntivitis no purulenta bilateral o signos de inflamación mucocutánea (boca, manos o pies) ● hipotensión o shock ● datos de disfunción miocárdica, pericarditis, valvulitis o anomalías coronarias (incluidos hallazgos ecocardiográficos o valores elevados de troponina/NT-proBNP) ● evidencia de coagulopatía (alteración de TP, TTPa o valores elevados de dímeros D) ● síntomas gastrointestinales agudos (diarrea, vómitos o dolor abdominal). ● Y valores elevados de marcadores de inflamación (elevación de VSG, PCR o PCT). ● Y ninguna otra causa microbiológica evidente de inflamación, incluida la sepsis bacteriana y los síndromes de shock tóxico estafilocócico o estreptocócico. ● Y evidencia de COVID-19 (RT-PCR, pruebas antigénicas o serología positivas) o contacto probable con un caso de COVID-19 en las últimas 4 semanas.
CDC (82) US MIS-CDC	● Paciente < 21 años con fiebre de >24 horas ● Y evidencia de enfermedad grave que precise hospitalización con afectación de ≥ 2 órganos o sistemas (cardíaco, respiratorio, hematológico, gastrointestinal, dermatológico o neurológico) signos de respuesta inflamatoria (elevación de PCR, VSG, fibrinógeno, PCT, Dímero D, ferritina, LDH o IL-6, neutrofilia, linfopenia o descenso de cifra de albúmina). ● Y exclusión de otros diagnósticos alternativos ● Y evidencia de COVID-19 reciente o actual (RT-PCR, pruebas antigénicas o serología positivas) o con contacto con caso de COVID-19 en las últimas 4 semanas.
RCPCH UK (81) PIMS-TS	● Fiebre persistente $\geq 38.5^{\circ}\text{C}$? ● Y evidencia de disfunción orgánica o multiorgánica (shock, cardíaca, respiratoria, renal, gastrointestinal o neurológica) ● Y signos de respuesta inflamatoria (neutrofilia, PCR elevada y linfopenia) ● Y exclusión de otras causas infecciosas, incluyendo sepsis bacteriana, shock tóxico estreptocócico o estafilocócico e infecciones asociadas a miocarditis ● RT-PCR para SARS-CoV-2, anticuerpos o exposición a SARS-CoV-2: No obligatoria.
CPS(85) Canada PIMS	● Fiebre persistente $>38.5^{\circ}\text{C}$ ≥ 3 días ● Y evidencia de disfunción orgánica o multiorgánica (no específica) ● Y signos de respuesta inflamatoria (elevación PCR, VSG o ferritina) ● Y exclusión de otras causas infecciosas, incluyendo sepsis bacteriana, shock tóxico estreptocócico o estafilocócico e infecciones asociadas a miocarditis ● RT-PCR para SARS-CoV-2, anticuerpos o exposición a SARS-CoV-2: No obligatoria.

3.4.2 Infección por SARS-CoV-2 y relación con el MIS-C

Los mecanismos fisiopatológicos de la infección por SARS-CoV-2 para desencadenar el MIS-C son todavía desconocidos y complejos. Se ha descrito la formación de autoanticuerpos por reconocimiento de autoantígenos, reconocimiento de antígenos virales expresados en células infectadas, formación de complejos inmunes y presencia de secuencias de superantígenos virales que activan las células inmunitarias (71)

La detección de anticuerpos frente al SARS-CoV-2 en niños con MIS-C demuestra asociación, pero no necesariamente causalidad. Además, la magnitud y la cinética de la respuesta de anticuerpos pueden afectar la gravedad clínica, al diagnóstico y protección a largo plazo en la infección por SARS-Cov-2, que puede jugar un papel en por qué los niños experimentan una menor morbilidad con respecto a los adultos.

El periodo ventana entre la exposición al SARS-CoV-2 y el desarrollo de MIS-C no ha sido bien establecido y en función de las series analizadas varía entre 6 y 79 días(55). La importante elevación de los marcadores inflamatorios recuerda a la que presentan los adultos con formas graves de COVID-19 relacionadas con la liberación masiva de citoquinas. De hecho, tras ser estudiados los pacientes con MIS-C y EK de nuestro Hospital, se observó un patrón de citoquinas circulantes elevadas y distintas en comparación con controles sanos, con marcadores de respuesta inducida por IFN- γ (incluidos IFN- γ , IL-18 e IP-10) y marcadores de activación de monocitos inflamatorios (incluido MCP -1, IL-1 α e IL-1RA) (86).

Stuart P. Weisberg *et al.* (87) demostraron distintas respuestas de anticuerpos en niños con MIS-C en comparación con adultos con enfermedad grave por COVID-19 y con infección por SARS-CoV-2 no grave. MIS-C generó predominantemente anticuerpos IgG específicos para la proteína Spike (S) pero no para la proteína nucleocápside (N), mientras que las cohortes de COVID-19 tenían anti-S IgG, IgM e IgA, así como anticuerpos IgG anti-N. Además, los anticuerpos de pacientes con MIS-C

habían reducido la capacidad de neutralización en comparación con ambas cohortes de COVID-19, lo que podría indicar una respuesta serológica protectora reducida. Estos resultados sugieren un curso de infección distinto y una respuesta inmune en niños y adultos que desarrollan una enfermedad grave. Además, la proporción de anti-S IgG a IgM fue significativamente mayor en los pacientes con MIS-C en comparación con los sujetos con SDRA-COVID y CPD (relación MIS-C anti-S IgG/IgM 3,35 frente a SDRA-COVID 1,48, $p<0,0001$) y frente a CPD 1,95, $p=0,001$), lo que indica una producción sesgada de anti-S IgG en MIS-C.

Se destaca en estos estudios que además del valor de diagnóstico de la prueba de anticuerpos, hay una fuerte correlación positiva entre la gravedad clínica y el título de anticuerpos desde la segunda semana después del inicio de la enfermedad (88). La serología cuantitativa de SARS-CoV-2 podría tener un papel en establecer el diagnóstico de MIS-C, distinguirlo de entidades clínicas similares y estratificar el riesgo de gravedad o secuelas del cuadro clínico.

Cabe resaltar que se han descrito casos de MIS-C durante todas las olas de la pandemia, independientemente de la variante de SARS-CoV-2 predominante, pero que el fenotipo de presentación y su gravedad ha sido diferente. Con respecto a los datos en la literatura (82), se ha ido atenuando con respecto a severidad (% de pacientes con shock cardiogénico, afectación miocárdica e ingreso en UCI-P) y se ha ido atenuando en cuanto a incidencia (disminución de la capacidad de producir MIS-C en relación a la infección por SARS-CoV-2 en el periodo ómicron (89)).

3.4.3 Epidemiología del MIS-C

En general, MIS-C es una complicación poco común después de la infección por SARS-CoV-2. No se sabe con certeza cuántos casos de MIS-C se han producido en todo el mundo, pero se cree que su incidencia es baja. La incidencia mundial de SARS-CoV-2 en menores de 18 años es de 322 casos por 100.000 habitantes y la incidencia de MIS-C es 2 por cada 100.000 habitantes (82).

Como limitaciones a los estudios de datos de incidencia y prevalencia, cabe destacar que el MIS-C se produce en una fase posterior a la infección por SARS-CoV-2, por lo tanto, todos los factores anteriormente mencionados que puedan afectar a la epidemiología y diagnóstico de la propia infección por SARS-CoV-2, también estarán presentes en esta estimación. Se sabe que la incidencia de MIS-C varía en función de la zona geográfica de estudio, y también varía según el momento de la pandemia en la que se realiza, en función de las diferentes variantes que han predominado en cada ciclo.

Una revisión sistemática de mayo de 2020 de 26 países informó una incidencia de MIS-C del 0,14% entre todos los niños con infección por SARS-CoV-2 (38), pero esta incidencia estimada puede ser imprecisa debido a la posible subestimación de las infecciones generales por SARS-CoV-2 en niños. Payne J. *et al.* (90) en población del Reino Unido, comunicaron una incidencia de 5,1 casos de MIS-C /1.000.000 habitantes y 367 casos de MIS-C/1.000.000 infecciones por SARS-CoV-2. Se incluye en la discusión de esta tesis los resultados de nuestro trabajo sobre incidencia de MIS-C en Cataluña, comparándolo con otras incidencias publicadas por otros grupos de investigación en diferentes países.

3.4.4 Distribución racial, edad y sexo.

En un estudio multicéntrico de EE.UU con 2.060 pacientes con criterios de MIS-C, aproximadamente el 63% de los pacientes incluidos con información disponible sobre raza/etnia, ocurrieron en niños hispanos, latinos o negros (91). Es posible que existan factores genéticos individuales y/o poblacionales que condicionen este tipo de respuestas inflamatorias post-infecciosas. Nédélec *et al.* (92) examinó las diferencias de población en la respuesta inmune a los patógenos, encontrando que la ascendencia africana se asociaba a una respuesta inflamatoria a los patógenos más fuerte que la ascendencia europea. Se necesitan más estudios para evaluar la respuesta inmune a este nuevo coronavirus con respecto a las diferencias raciales y étnicas, otros factores que pueden influir en las hospitalizaciones y el efecto sobre los resultados (93). Uno de

los objetivos de nuestro estudio es aportar datos de las características poblacionales y raciales de la cohorte.

Por lo general, la edad media de presentación es alrededor de los 8 años, aunque se ha informado MIS-C en niños desde la infancia hasta la adultez temprana (70). También se ha registrado su presencia en Neonatos (diagnóstico de MIS-N en menores de 28 días) (94,95) y excepcionalmente el MIS se ha descrito también en adultos (MIS-A) (96). Recientemente se ha descrito también en algunos pacientes tras ser vacunados con vacunas RNAm (97,98)

3.4.5 Fenotipos clínicos y formas de presentación del MIS-C.

Al igual que la enfermedad de Kawasaki, el síndrome multisistémico inflamatorio pediátrico es un síndrome complejo con un amplio espectro de fenotipos clínicos. Ambas entidades son síndromes hiperinflamatorios provocados por infecciones con diversos grados de complicaciones, como shock cardiogénico y síndrome de activación macrófaga en el extremo más grave del espectro, y una enfermedad febril autolimitada en el extremo leve.

La mayoría de los pacientes con MIS-C presentan fiebre y síntomas gastrointestinales (dolor abdominal, vómitos, diarrea), cambios mucocutáneos (erupción cutánea, conjuntivitis) y pueden experimentar síntomas neurológicos (dolor de cabeza, meningismo, obnubilación) (99,100). Los signos críticos pueden incluir inestabilidad hemodinámica, hipotensión y shock, taquicardia, disfunción ventricular izquierda y dificultad respiratoria, que pueden ser primaria o estar causadas por disfunción cardíaca (101,102).

Las alteraciones de laboratorio incluyen linfopenia, anemia y trombocitopenia, además de elevación de enzimas hepáticas, creatinina, proteína natriurética, troponina y estudios de coagulación (99). Todos los pacientes en los que existe una fuerte sospecha de MIS-C deben someterse a un ecocardiograma para evaluar la función cardíaca y buscar evidencia de disfunción ventricular y/o dilatación de las arterias coronarias (101)

Se han descrito tres patrones clínicos en el síndrome multisistémico inflamatorio pediátrico: shock, enfermedad de Kawasaki y fiebre e inflamación (75).

- Síndrome multisistémico inflamatorio pediátrico - fenotipo shock: tiene varias características clínicas que se superponen con el síndrome de shock tóxico y el síndrome de shock de la enfermedad de Kawasaki. Los niños están críticamente enfermos e hipotensos, con un alto grado de hiperinflamación (PCR significativamente elevada, hiperferritinemia, neutrofilia, linfopenia), marcadores cardíacos sustancialmente elevados (troponina y NT-proBNP), hipoalbuminemia, hiponatremia y anomalías en el ECG (102).
- Síndrome multisistémico inflamatorio pediátrico- fenotipo Enfermedad de Kawasaki: el MIS-C comparte características clínicas con la EK (sobre todo la presencia de fiebre junto con conjuntivitis y exantema), lo que puede dificultar aún más su clasificación y detección. La EK es una vasculitis sistémica que afecta a los vasos de mediano y pequeño tamaño, de etiopatogenia todavía desconocida, y que afecta a población pediátrica. Las definiciones de MIS-C por parte de los CDC y del RCPCH incluyen criterios comunes a la EK, además de que recomiendan la inclusión de pacientes con diagnóstico de EK asociada a SARS-CoV-2 bajo el concepto de MIS-C. Las características compartidas incluyen fiebre (38,5 °C) durante 5 días o más, además de las características clásicas de diagnóstico de la enfermedad de Kawasaki (es decir, erupción cutánea, inyección conjuntival no exudativa, cambios en la mucosa bucal [lengua de fresa, labios rojos y/o agrietados], cambios periféricos [hinchazón y/o enrojecimiento de las manos y los pies] y linfadenopatía cervical, y las consecuencias de la inflamación vascular que conducen al daño de las arterias coronarias y la formación de aneurismas)(103). Sin embargo, existen características que diferencian ambas entidades, los pacientes con EK relacionada con SARS-CoV-2 suelen ser mayores (>6 años), asocian casi siempre síntomas gastrointestinales, tienen reactantes de fase aguda más elevados, y un mayor riesgo de shock, hipotensión, afectación coronaria y disfunción miocárdica, que los pacientes con EK sin antecedente de infección por SARS-CoV-2 (104).

- Síndrome multisistémico inflamatorio pediátrico- fenotipo fiebre e inflamación: es el más leve. Estos niños se presentan con fiebre y evidencia bioquímica de hiperinflamación, pero sin características clínicas de enfermedad de Kawasaki o shock. Los aneurismas de las arterias coronarias y la lesión miocárdica pueden ocurrir en los 3 fenotipos incluso en ausencia de las características de la enfermedad de Kawasaki.

Además de la descripción de los fenotipos clínicos, se ha propuesto una clasificación de gravedad basada en una combinación factores relacionados con la necesidad de estabilización y tratamiento como son la necesidad de vasoactivos inotrópicos (VIS), necesidad de soporte ventilatorio y evidencia de daño multiorgánico (105).

- Leve: no requiere fármacos vasoactivos, soporte respiratorio mínimo y / o signos de mínimo daño a órganos.
- Moderado (VIS menor o igual a 10), requiere oxígeno suplementario y /o leve daño a órgano aislado.
- Grave (VIS mayor a 10), requiere soporte ventilatorio no invasivo o invasivo y/o daño a órgano moderado o grave, incluyendo disfunción ventricular moderada o grave.

Aunque existen hipótesis sobre los factores de riesgo de MIS-C, como una inmunidad preexistente más baja a los coronavirus (106), los factores de riesgo específicos para desarrollar MIS-C en niños no están bien establecido. Al parecer, los niños que desarrollan MIS-C tienen más probabilidades de tener antecedentes de enfermedades subyacentes como obesidad, asma o enfermedades cardíacas (107).

Abrams J. Y, *et al.*(108) publicó en el Lancet una de las primeras revisiones sistemáticas de la literatura con el fin de identificar los factores asociados a peor evolución en el MIS-C. De un total de 1.080 pacientes analizados de marzo a octubre del 2020 (primera fase de pandemia), encontraron como productores de disfunción cardíaca, shock e ingreso en UCI-P: edad mayor de 5 años, raza negra, presentación

con dificultad respiratoria o dolor abdominal, presencia de trombopenia o linfopenia, aumento de troponina I, pro-BNP, aumento de RFA (PCR, d-dímero, IL-6).

3.4.6 Hipótesis fisiopatológicas

La patogénesis del MIS-C sigue siendo objeto de debate y está todavía en estudio. Se parte de la hipótesis de que se trata de un síndrome inflamatorio en relación con la infección por SARS-CoV-2 (trigger), que ocurre en base a un organismo con una predisposición genética determinada.

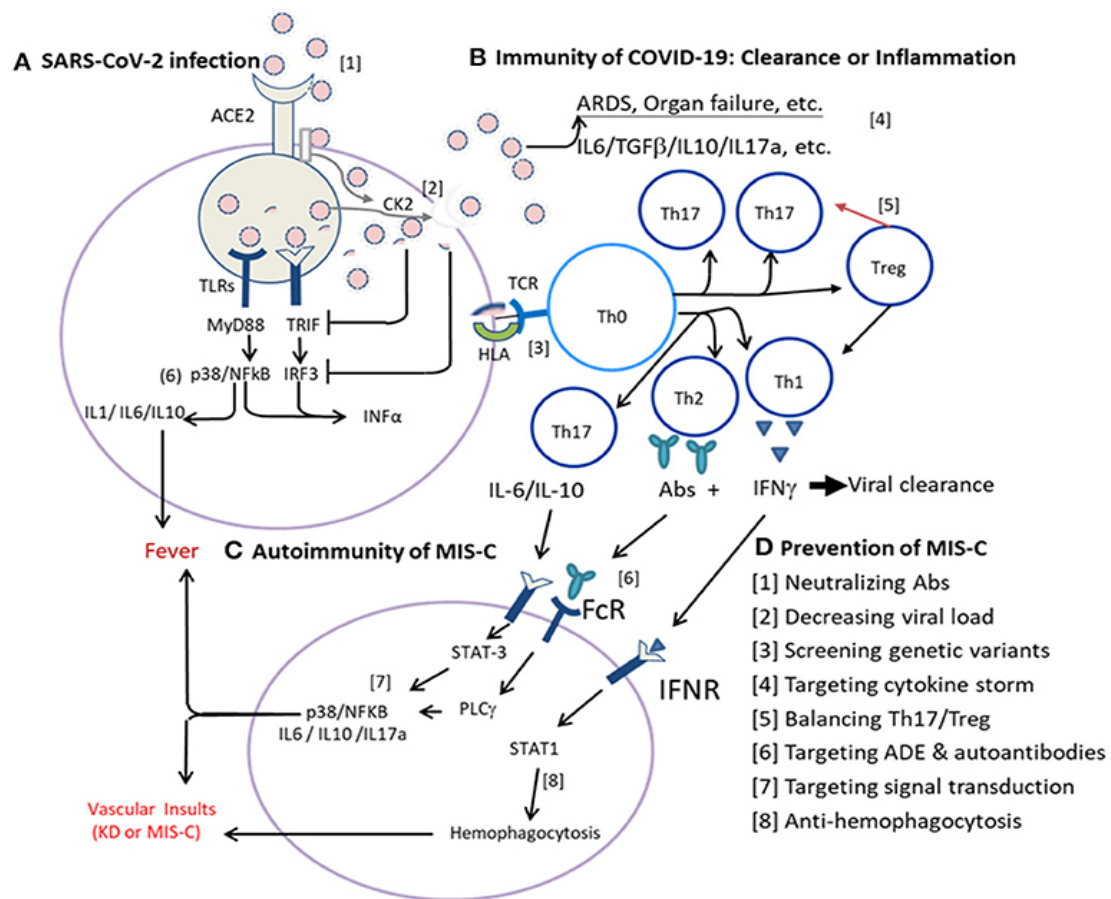


Figura 8: Hipótesis fisiopatológicas que llevan a la infección por SARS-CoV-2 al desarrollo de MIS-C.

Fuente: Chen MR, et al. Phenotype, Susceptibility, Autoimmunity, and Immunotherapy Between Kawasaki Disease and Coronavirus Disease-19 Associated Multisystem Inflammatory Syndrome in Children. Front Immunol. 2021 (71)

Todavía se discute si MIS-C es un trastorno de hiperinflamación postinfecciosa, autoinflamatoria o autoinmune (71,109).

Entre los mecanismos implicados en su fisiopatología destacamos:

- **Desregulación inmune:** La inmunidad innata, formada principalmente por el sistema monocítico-macrófago y las células natural killer (NK) activadas por señalización IFN I, es insuficiente para la eliminación viral. Por otro lado, la inmunidad adaptativa puede no ser totalmente eficaz. Estos dos aspectos pueden conducir a una vía alterada de producción de anticuerpos y de maduración de la afinidad, con el resultado de una antigenemia persistente, que podría representar una hipótesis para el desarrollo de MIS-C (41). Las subpoblaciones T CD4+ y su inducción y maduración durante las infecciones agudas desempeñan un papel en el camino hacia la inmunopatología. Los pacientes adultos hospitalizados por COVID-19 mostraron una firma Th1 predominante con una producción sustancial de IFN- γ (67). Incluso en niños, el IFN- γ se ha encontrado en niveles más altos en MIS-C que en pacientes con COVID-19 y pacientes sanos. Las observaciones indican que la respuesta Th1 parece predominar sobre la firma Th2 en fases agudas de COVID severa y MIS-C. La primera está relacionada con inflamación, mayor expansión de Th1 e inhibición de la diferenciación de Th2; la segunda está relacionada con la producción de anticuerpos, el cambio de clase de Ig y la modulación de la respuesta inmunitaria. El desequilibrio entre Th1 y Th2 y la ausencia de progresión hacia una respuesta inmunitaria adaptativa también puede obligar al huésped a depender únicamente de la inmunidad innata para controlar la infección, causando daños tisulares inmunomediados.
- Mecanismo inflamatorio post-infeccioso provocado por el **fenómeno de amplificación de la infección dependiente de anticuerpos (ADE)**, por presencia de anticuerpos IgG no neutralizantes. Una posible hipótesis de por qué algunos niños desarrollan MIS-C y otros no es que la inmunidad previa a otros virus

podrían modular sus respuestas al SARS-CoV-2 infección y dar lugar, paradójicamente, a hiperinflamación ya sea por anticuerpos u otros mecanismos (110). La ADE es un mecanismo en el que los anticuerpos no neutralizantes de título bajo (ya sean naturales, de baja afinidad) pueden unirse a un virus y facilitar su entrada en las células del sistema reticuloendotelial a través del receptor Fc. En el caso del SARS-CoV-2, la presencia de componentes víricos en el citosol puede desencadenar una respuesta inflamatoria y la producción de sustancias proinflamatorias y la producción de citoquinas proinflamatorias (111). Este proceso ya se ha observado como causa de un aumento de la gravedad de otras enfermedades infecciosas como el dengue, en el que la reacción cruzada de epítomos no neutralizables determina una ADE, potenciando en consecuencia la gravedad inflamatoria de la respuesta. Se ha visto en diferentes exposiciones a diferentes cepas de Dengue, e incluso entre Zika y Dengue, donde la exposición previa a Zika aumenta el riesgo de producir un Dengue grave posterior (112). En el MIS-C, todavía no existen datos claros de acción de estos mecanismos, pero esta asociación y potenciación compleja entre infecciones víricas que pueden modular la respuesta inmune, está siendo motivo de estudio. Los coronavirus del resfriado común son particularmente interesantes como posibles moduladores de la respuesta inmune al SARS-CoV-2 dadas sus similitudes. Consiglio *et al.* (106) objetivaron estos hallazgos en su estudio en el que analizaban IgG contra múltiples virus en pacientes con EK, MIS-C, COVID-19 y controles sanos. Encontraron que los anticuerpos IgG contra el coronavirus HKU1 eran frecuentes, al igual que los anticuerpos al betacoronavirus 1. En contra, objetivaron que los pacientes MIS-C fueron los únicos que carecían de anticuerpos contra cualquiera de estos coronavirus comunes. Probablemente, la falta de anticuerpos IgG contra los coronavirus modula la respuesta inmune al SARS-CoV-2 infección y juega un papel en la patogénesis de MIS-C. De la misma forma, la presencia de inmunidad circulante para otros virus podría potenciar la respuesta inmune en el caso de una infección aguda por SARS-CoV-2, como ocurre en otros modelos de infección humana ya comentados (113)

- Proteínas de membrana del virus SARS-CoV2 podrían comportarse como **superantígenos** que se unen directamente al TCRab, siendo capaz de inducir un estado de hiperinflamación (114). Por un lado, la inmunidad innata, formada principalmente por el sistema monocítico-macrófago y las células natural killer (NK) activadas por señalización IFN I, es insuficiente para la eliminación viral. Por otro lado, la inmunidad adaptativa puede no ser totalmente eficaz. Estos dos aspectos pueden conducir a una vía alterada de producción de anticuerpos y de maduración de la afinidad, con el resultado de una antigenemia persistente, que podría representar una hipótesis para el desarrollo de MIS-C (41)
- **Tormenta de citoquinas**, debido a que se ha encontrado que el SARS-CoV2 bloquea de la respuesta de interferones tipo I y III, el sistema inmune no es capaz de detener la replicación viral, lo que provoca una tormenta de citoquinas exagerada, con incremento en la inflamación y afectación sistémica. El iniciador de la cascada en MIS-C parece ser el alto nivel de proteína spike circulante en la sangre de sujetos susceptibles (115).

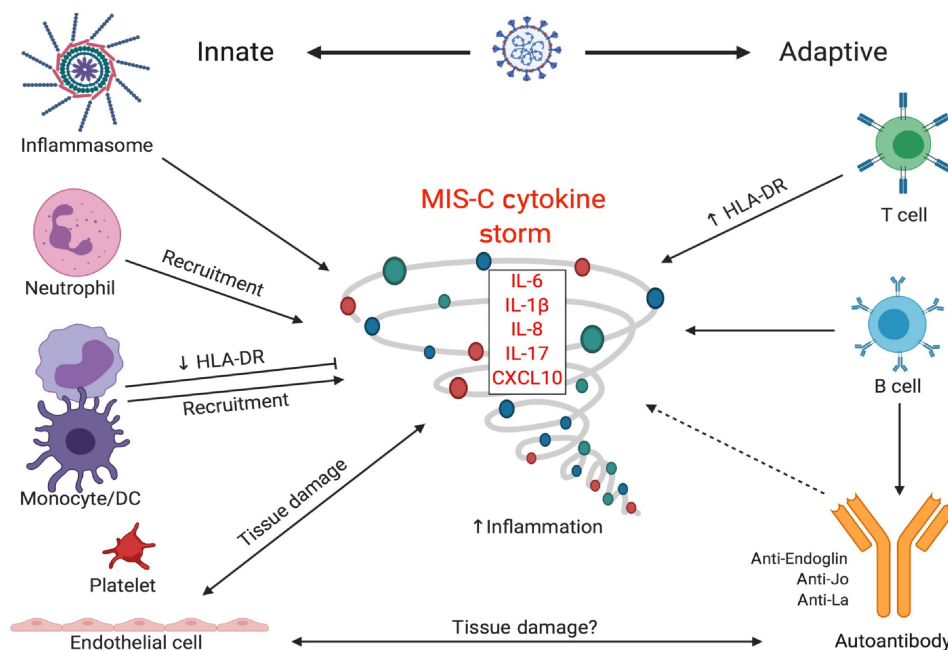


Figura 9: Principales citoquinas relacionadas con estado inflamatorio en el MIS-C. Fuente: The Mystery of MIS-C post-SARS-CoV-2 infección. Brodsky et al. (116)

- El **daño epitelial por SARS-CoV2** puede inducir una endotelitis local secundaria, lo cual ocasiona un fenotipo de vasculitis con regulación a la alta de interleucina-1 β (IL-1 β) o interleucina-6 (IL-6); además, en las células endoteliales infectadas se ha encontrado un acumulo de células inflamatorias, apoptosis y piroptosis.⁵ Además, existe evidencia de daño vascular por coronavirus en otras especies, como los gatos (117). Y se han demostrado manifestaciones relacionadas con daño endotelial agudo en pacientes con COVID-19 (aumento del número de infartos en adultos (118) y peor mortalidad en pacientes con morbilidad del sistema cardiovascular (119).
- Producción de **autoanticuerpos y depósitos de complejos inmunes**. De los escasos estudios anatómo-patológicos que existen, Su H *et al.* (120) demuestran depósito de virus y células inflamatorias a nivel de pequeño vaso. En una serie de autopsias realizadas a 26 pacientes fallecidos por COVID-19 con perfil de insuficiencia respiratoria y fallo multiorgánico, se encontraron 9 pacientes con elevación de creatinina y proteinuria asociada. En estos, se objetivaron cambios anatomopatológicos que consistían en agregados eritrocíticos que obstruían el lumen, y se hallaron depósitos de inmunocomplejos (a través de microscopía electrónica observaron clusters de virus en el epitelio tubular, junto con positividad para ACE2 receptor y Ac-SARS-CoV-2).
- **Autoanticuerpos en MIS-C:** Los estudios que examinan la participación de moléculas entre los antígenos del SARS-CoV-2 y los autoantígenos relacionados con MIS-C aún no han sido bien estudiados, pero las investigaciones *in vitro* confirman la correspondencia entre las proteínas de punta y proteínas nucleares del SARS-CoV-2 y antígenos tisulares humanos.(121). En personas menores de 60 años, la COVID-19 grave se observa en organismos afectados por errores innatos de la inmunidad relacionados con el IFN. En las personas mayores, aumenta la proporción de sujetos con autoanticuerpos anti-IFN-I, imitando una falta de acción del IFN (122).

- **Predisposición del huésped.** Los factores de riesgo específicos para desarrollar MIS-C en niños no están bien establecidos. Se cree que la existencia de una susceptibilidad inmunológica explicaría una menor atenuación del virus con una consiguiente replicación silente y esto se relaciona con el fenómeno post-infeccioso inflamatorio. Ya se conoce que los errores congénitos de la inmunidad humana que afectan la vía de inducción del IFN-I se han asociado con la predisposición a infecciones virales graves. Y también puede asociarse consecuentemente al desarrollo de MIS-C, como se publica en pacientes con este defecto inmunitario que han desarrollado MIS-C después de infección y/o vacunación (123).

Por otro lado, Lee D. *et al.* (124) realizaron la secuenciación del exoma completo en una cohorte de pacientes con MIS-C y por primera vez descubrieron deficiencias autosómicas recesivas de OAS1, OAS2 o RNASEL en alrededor del 1% de la cohorte. Nuestro hospital y grupo de trabajo de MIS-C colaboró con estos hallazgos reclutando a dos pacientes. Estos genes son componentes de una vía de señalización que suprime la inflamación en fagocitos mononucleares estimulados por ARN bicatenario. Por lo tanto, los errores congénitos recesivos de un solo gen de la vía OAS-RNasa L pueden dar lugar a una producción incontrolada de citoquinas inflamatorias por parte de fagocitos mononucleares después de la infección por SARS-CoV-2, lo que podría explicar los orígenes de MIS-C en algunos niños.

Ciertos genes del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) también podrían estar asociados a una mayor severidad del COVID-19, así como delecciones o mutaciones del gen TLR7 (que induce producción de interferón) (71). La antigenemia no es suficiente para iniciar el MIS-C, sino que se cree que la inmunidad adaptativa también desempeña un papel. Esto se apoya en observaciones de pacientes con errores innatos de inmunidad que han experimentado COVID-19 leve. Estos pacientes que tienen inmunodeficiencias adaptativas, la evolución de la enfermedad fue comparable o incluso menos sintomática que en la población general (125).

3.4.7 Tratamiento del MIS-C

El enfoque de tratamiento va a consistir en estrategias de soporte generales que precise el paciente en función de su estado de gravedad (soporte respiratorio, hemodinámico, infeccioso, hidroelectrolítico, anticoagulantes) y otra vía más dirigida a bloquear la activación/cascada de citoquinas y controlar la respuesta inflamatoria desregulada. Esta estrategia de tratamiento es similar a la empleada en la EK, y va encaminada a disminuir o eliminar el riesgo de secuelas cardíacas secundarias. Sin tratamiento y sin control de la inflamación, la incidencia de aneurismas coronarios en la EK es del 25% en contra del 7% cuando se instaura el tratamiento)(103). Teniendo en cuenta que los datos de afectación cardíaca y coronaria en el MIS-C oscilan entre 25-70% según las series (82), los expertos han seguido una estrategia similar a la propuesta en la EK (103) con el fin de controlar el riesgo de secuelas cardíacas. La mayoría de las guías de manejo terapéutico han adaptado el uso de agentes inmunomoduladores, incluidos IVIG y esteroides, tromboprolifaxis y protocolos para la vigilancia cardíaca por imágenes igual que de la enfermedad de Kawasaki, dadas sus similitudes.

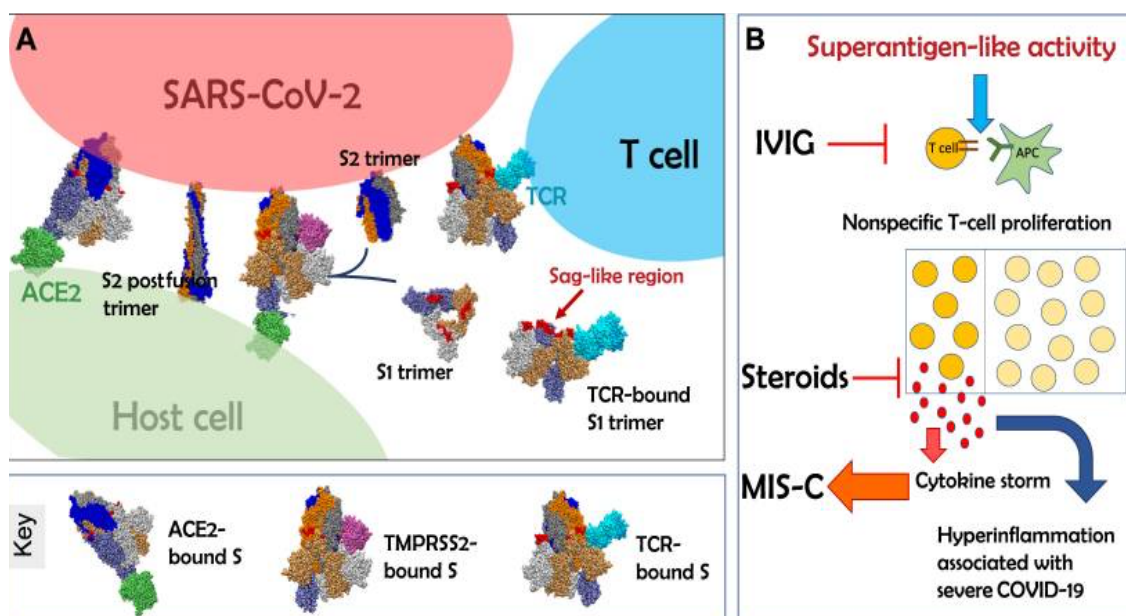


Figura 10: Mecanismo de acción de SARS-CoV-2 en MIS-C y potenciales dianas de tratamiento. Fuente: Association of Intravenous Immunoglobulins Plus Methylprednisolone vs Immunoglobulins Alone With Course of Fever in Multisystem Inflammatory Syndrome in Children. Ouldali N, *et al.* (126)

En general, se han utilizado como estrategia de tratamiento las IGIVs desde el inicio, asociándose corticoides a dosis medias-altas en función de la gravedad, recomendándose su uso combinado como mejor estrategia de tratamiento (126).

En julio de 2020, el Colegio Estadounidense de Reumatología (ACR) (127) emitió una guía clínica para la investigación y el tratamiento de la sospecha de MIS-C en niños. Esta guía se ha ido actualizando conforme iba transcurriendo la pandemia hasta su última versión (128).

Como segunda línea de tratamiento, en caso de MIS-C refractario a corticoides e IGIV (persistencia de inflamación 48 h después de la primera línea de tratamiento o sospecha de HLH, concomitante en fallo cardíaco), se propone el uso de biológicos. Al inicio de la pandemia y según la experiencia de adultos, se propuso Tocilizumab, aunque sin estudios ni experiencia en pediatría, y objetivando otras líneas de activación y de predominio de IL en los primeros estudios pediátricos, rápidamente se propuso Anakinra (129). Posteriormente, Infliximab también ha mostrado buenos resultados en el tratamiento de MIS-C refractario (130,131). (132).

3.4.8 Seguimiento y evolución a largo plazo

Las manifestaciones agudas y los resultados a corto plazo del síndrome inflamatorio multisistémico (MIS-C) se han descrito ampliamente. A pesar de la gravedad de la presentación inicial, la mayoría de las anomalías parecen resolverse rápidamente en las primeras semanas. Sin embargo, todavía existen pocos estudios longitudinales a largo plazo. A continuación, revisamos la literatura existente sobre los resultados de seguimiento de MIS-C hasta 1 año después del diagnóstico y resumimos las recomendaciones de expertos publicadas actualmente para el manejo y seguimiento de estos pacientes.

Uno de los primeros estudios de la evolución y seguimiento a largo plazo (6-12 meses) fueron publicados por Penner *et al* (133). Este estudio de cohorte retrospectivo comprendió niños que cumplieron con los criterios de diagnóstico de

PIMS-TS del Royal College of Paediatrics and Child Health (RCPCH) del Reino Unido. Un equipo multidisciplinario de especialistas realizó un seguimiento de los pacientes a las 6 semanas y 6 meses después de la admisión. Se analizaron aspectos bioquímicos (medio interno y alteraciones de hemograma), clínicos, evaluaciones ecocardiográficas y otros aspectos de salud. A pesar de la enfermedad grave inicial, se observaron pocas secuelas específicas en órganos a los 6 meses. Las demandas de la población estudiada incluían aspectos de cansancio físico, regular descanso nocturno y necesidad de apoyo en salud mental. Las evaluaciones de fisioterapia revelaron una tolerancia al ejercicio deficiente persistente.

En general, las series de seguimiento a largo plazo muestran una rápida normalización de los marcadores inflamatorios después de la fase aguda de la enfermedad (134–136). Las anomalías de laboratorio que incluyen NT-proBNP, troponina-T, linfocitopenia, trombocitopenia y proteína C reactiva parecen volver a los rangos normales entre 1 y 4 semanas después del alta(134). Davies *et al.* (136) en su estudio de seguimiento al año de la cohort MIS-C del Reino Unido, informaron que el 50% de los pacientes mostraban cifras de normalización de linfocitos y neutrófilos a los pocos días, PCR a los 11 días y ferritina y dímero-D a las 3 semanas. Un año después de la admisión, solo el 2% de los pacientes aún no habían demostrado la normalización de los linfocitos, los neutrófilos y el recuento de plaquetas.

La afectación cardiovascular en la fase aguda del MIS-C es la más grave y la que condicionaría las peores secuelas (aneurismas coronarios) de la enfermedad. Afortunadamente, de la misma forma que las otras alteraciones en la fase aguda, al parecer existe una práctica recuperación del funcionalismo cardíaco, aunque los estudios a largo plazo son aún limitados a 1 año de seguimiento.

Farooqi *et al.* (134) siguieron a 45 pacientes hasta 9 meses después del diagnóstico. A pesar de una prevalencia del 80 % de anomalías ecocardiográficas al menos leves y del 44 % de anomalías ecocardiográficas al menos moderadas-graves, solo el 18 % presentaba anomalías leves residuales en el seguimiento de 1 a 4 semanas. NT-proBNP y troponina-T se normalizaron en la mayoría de los pacientes entre 1 y 4 semanas. De

los 24 pacientes que reclutaron para un seguimiento de 4 a 9 meses, solo 2 pacientes tenían anomalías ecocardiográficas (disfunción ventricular leve/regurgitación leve de válvula auriculoventricular).

De la misma forma y con un estudio muy similar, Capone *et al.* (135) siguieron a 50 pacientes MIS-C durante un período de 6 meses a intervalos de 2, 8 semanas y 6 meses después del alta. Durante la fase aguda, el 52% de los sujetos demostraron evidencia de disfunción sistólica del ventrículo izquierdo en el ecocardiograma y el 32% mostró evidencia de disfunción diastólica del ventrículo izquierdo, y el 24% tenía aneurisma o dilatación de la arteria coronaria. A las 2 semanas, la disfunción sistólica del ventrículo izquierdo estaba presente en solo 1 paciente (2 %) y las anomalías de la arteria coronaria estaban presentes en 3 pacientes (6 %) con resolución completa a las 8 semanas.

La valoración y el seguimiento cardíaco es fundamental en todos los casos de MIS-C. Todos los pacientes necesitan una evaluación ecocardiográfica al diagnóstico, con control diario en los casos graves. Para establecer si se ha producido una lesión de la arteria coronaria se necesitan ecocardiogramas de seguimiento al alta del hospital y después de 2 a 6 semanas. Los niños con disfunción del ventrículo izquierdo (VI) y AAC requerirán ecocardiogramas más frecuentes, e incluso se recomienda la realización de RMN cardíaca a los 2-6 meses con el fin de objetivar si existe lesión miocárdica o fibrosis post-inflamación (137).

3.5 MIS-C y la Enfermedad de Kawasaki

3.5.1 Introducción histórica de la Enfermedad de Kawasaki

La Enfermedad de Kawasaki (EK) es una vasculitis sistémica de mediano-pequeño vaso asociada a síndrome mucocutáneo, de etiopatogenia todavía desconocida. Descrita por primera vez en 1967 (138) por un médico japonés que le dio su nombre (el Dr. Tomisaku Kawasaki, 1925-2020), la enfermedad sigue siendo una gran desconocida para la comunidad médica.

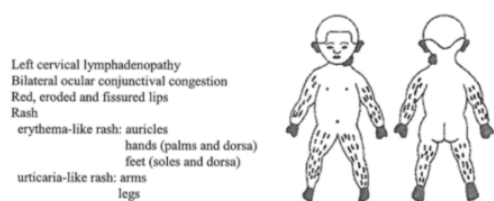


FIG. 1. Case 2 (1 year 8 months).

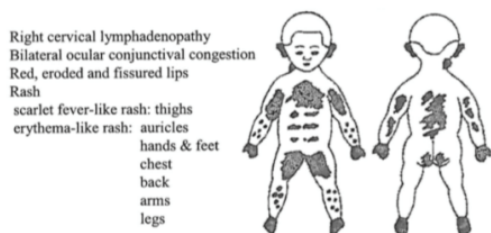


FIG. 2. Case 3 (8 months).

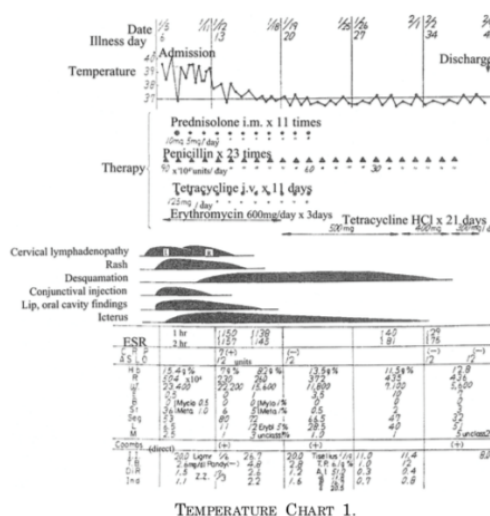


Figura 11: Iconografía original del Dr. T. Kawasaki extraída de la revista Arerugui (marzo 1967). Posteriormente (noviembre 2002), la Dra. Jane Burns publicó en The Pediatric Infectious Disease Journal su traducción.

Es la primera causa de cardiopatía adquirida en niños. Todo lo relacionado con esta entidad en cuanto a clínica, epidemiología, diagnóstico y afectación cardiovascular está disponible en las guías de práctica clínica desarrolladas por la Asociación Americana de Cardiología (AHA), publicadas en la revista Circulation, con última actualización en 2017 (103)

Existen múltiples teorías acerca de su relación con agentes infecciosos, predisposición genética y/o desregulación inmunológica. Se postula que la EK sería una respuesta inmune patológica y estereotipada, ante uno o varios factores ambientales o infecciosos, en unos individuos genéticamente predispuestos. Existen otras teorías que

han intentado explicar este fenómeno (agente medioambiental transportado por vientos troposféricos, posiblemente una toxina fúngica) (139).

3.5.2 Infecciones y EK

Aunque la causa exacta de la EK es desconocida, se cree es el resultado de una respuesta inmunitaria anormal a una infección viral o bacteriana. No se sabe con certeza qué infección específica puede desencadenar esta enfermedad, aunque se ha asociado con varios virus y bacterias como el virus del herpes humano 6 (140), el virus de Epstein-Barr (141), citomegalovirus (142), el virus del sarampión (143), el virus de la gripe (144), *Mycoplasma pneumoniae* (145), adenovirus (146), rinovirus, enterovirus (147), parainfluenza (148). En la literatura, existen incluso diferentes fenotipos clínicos de presentación de EK en función del agente relacionado. Por ejemplo, Huang X *et al.* (144) analizó 705 casos de EK que tenían aislado virus respiratorios, detectando 34/705 (4.8%) de influenza en el momento de la EK. Posteriormente analiza clínicamente los dos grupos, y describe que la EK relacionada con el virus Influenza, tiene un patrón inflamatorio más marcado y mayor índice de afectación coronaria y gravedad cardíaca que si se compara con la EK no relacionada con este virus.

Probablemente, la EK (fenómeno inflamatorio post-infeccioso) esté triggerizada por un agente infeccioso (149), y su fenotipo clínico dependerá pues del agente infeccioso desencadenante y de la respuesta inmunitaria del huésped. Además, es posible que otros elementos más inmunitarios como el patrón de base a infecciones que presente el huésped también tenga un papel relevante en su etiopatogenia. Lo que explicaría que algunas coinfecciones (como el rino-enterovirus y/o citomegalovirus) sean la base de un peor cuadro inflamatorio con estas características. De hecho, esta es la base de las hipótesis del efecto ADE (amplificación de la respuesta inmune) en el SARS-CoV-2 (ver apartado inmunidad). Todas estas hipótesis e implicaciones fisiopatológicas están todavía por definir.

3.5.2.1 Infección por coronavirus y EK.

Los coronavirus también han sido relacionados anteriormente con brotes de EK. En 1965, un grupo de virólogos informaron de que habían cultivado un nuevo virus humano al que llamaron coronavirus por la corona o halo que rodeaba al virus en la imagen real al microscopio (150,151). Dos años más tarde, en 1967, por primera el Dr. Tomisaku Kawasaki describe la enfermedad que posteriormente llevaría su nombre y, que a día de hoy, todavía se desconoce su desencadenante etiopatogénico. Casualidad o no, esta relación temporal-causal no tardó en volver a repetirse en la historia. En 2004, investigadores del Erasmus Medical Center en Países Bajos, informan del aislamiento de un coronavirus (más tarde llamado NL63) (152). De forma paralela en la literatura por esos mismos años (2005), otros autores informaron de una posible relación entre este nuevo coronavirus (NL63) y un brote de Enfermedad de Kawasaki (153). En años posteriores, se publicaron estudios que contradecían esta asociación (154) o que lo asociaban a otras cepas de coronavirus (155). Al parecer, esta relación epidemiológica clara en 2005, no pudo ser demostrada posteriormente.

De nuevo, casualidad o causalidad vuelven a estar en análisis y estudio en la literatura científica. Este hecho adquiere una relevancia especial tras la llegada de este nuevo coronavirus (SARS-CoV-2) y la descripción del MIS-C.

3.5.2.2 Infección por SARS-CoV-2 y EK.

El primer caso en la literatura que documenta la relación entre Enfermedad de Kawasaki en contexto de infección por SARS-Cov 2, fue publicado por Jones VG (156), en el que describe un lactante de 6 meses, con criterios de EK clásica completa, además de demostrarse la vinculación con SARS-CoV-2 debido a la positividad de SARS-CoV-2 en aspirado nasofaríngeo a través del método PCR. Evolucionó favorablemente con tratamiento con gammaglobulinas y no se detectaron aneurismas coronarios.

Posteriormente, conforme la pandemia de SARS-CoV-2 avanzaba a diferentes países, surgían publicaciones de clustters de pacientes que anunciaban un aumento de casos de EK y la aparición de casos de shock cardiogénico con características similares a la EK. La serie Italiana de Verdoni *et al.* (99), incluyeron 10 casos durante el pico de pandemia en Bérgamo, y compararon esta población con una cohorte de EK pre-pandemia. La incidencia durante el estudio fue de 10 casos/mes, lo que suponía un aumento de la incidencia de más de 30 veces respecto a los 5 años previos a la pandemia. Este mismo hallazgo lo objetivamos en su momento en nuestro grupo (104), donde observamos en casi un mes (finales de abril 2020-mayo 2020) un total de 12 casos (mientras que nuestra incidencia anual era de 8-10 casos/año). En el Reino Unido se publicaron 8 casos de niños con shock hiperinflamatorio, con características similares a la EK atípica o incompleta, que lo hacían prácticamente indistinguible del Síndrome de shock por Enfermedad de Kawasaki (100).

3.5.3 Epidemiología de la EK durante la pandemia

La EK tiene una incidencia variada entre niños de diferentes razas y etnias, con la mayor incidencia en el este de Asia, especialmente en Japón y Corea del Sur. En general, la EK disminuyó en incidencia en los reportes de diferentes países (Japón (157), Corea (158)) durante la pandemia. Por otro lado, en estos países (Japon, Corea del Sur) no han encontrado asociación entre SARS-CoV-2 y EK (159), y tampoco han tenido casos de MIS-C durante la pandemia, aunque si se lee con detalle los datos de estos estudios, la mayoría de pacientes con EK no estaban testados para SARS-CoV-2. A pesar de estas limitaciones, la ausencia de casos de MIS-C en estos territorios también podría explicarse porque MIS-C muestra una predilección por personas de ascendencia negra o hispana, siendo menos frecuente en la raza asiática. Además, las medidas contra la transmisión del SARS-CoV-2 como el uso de máscaras faciales, distanciamiento físico y actividad socioeconómica restringida han contribuido a la disminución de las infecciones virales, algunas asociadas con EK, lo que posiblemente ha contribuido indirectamente a la disminución de casos de EK durante la pandemia.

En Japón, donde la incidencia de este trastorno es mayor que en cualquier otro país, Lio K *et al.* (157) publicaron que había habido un descenso de incidencia de EK de hasta un 40% menos que en otros periodos anteriores al 2020. Si bien, estos estudios se habían realizado en fechas muy iniciales de la pandemia (primeros meses del 2020), cuando todavía MIS-C no había hecho su aparición. Por otro lado, en Japon existe un sistema de vigilancia de la EK (en el que participan 199 hospitales) y en fecha 13 de Julio del 2020, se solicitó la información de cuántos casos por EK se habían registrado. Respondieron 50 hospitales, con un total de 496 casos de EK, de los cuales sólo 81 tenían testada PCR para SARS-CoV-2 (de los cuáles 6 resultaron positivos). El resto (412) no fueron testados. Con estos datos, *Nakamura et al.* (159) concluyen que no hay relación entre EK y SARS-CoV-2, siendo en realidad la mayor parte de la muestra “desconocida” para esta asociación.

En Corea, Kim *et al.* (158), informaron sobre la situación real de la EK durante la pandemia, específicamente durante el tiempo de distanciamiento social obligatorio. Los autores recopilaron los datos de cinco hospitales afiliados a universidades ubicados en el Área Metropolitana de Seúl, donde se podía ver fácilmente el efecto de la política. En el informe, se observó una disminución en el número total de pacientes con EK. A pesar que sí se objetivó un cambio con un aumento de la proporción de admisiones de EK de bebés menores de 1 año, la proporción de EK refractaria y los casos complicados no aumentaron significativamente durante el período de distanciamiento social.

Más recientemente, Burney *et al.* (160) analizaron datos del ensayo KIDCARE para demostrar que los casos de EK disminuyeron en un 28 % en los EE. UU. en 2020, lo que los investigadores atribuyeron a la obligatoriedad de usar mascarillas, el cierre de escuelas, la disminución de la contaminación ambiental y la disminución de la circulación de virus respiratorios.

Hemos visto en diferentes series (74,82,101) que casi la mitad de los niños pequeños con MIS-C, cumplen con los criterios de EK completa (40%), pero que las características similares a las de EK son poco comunes en adolescentes con MIS-C.

Estas dificultades de diagnóstico podrían hacer infradiagnosticar MIS-C e incluso supradiagnosticar EK (si no se estudia bien la asociación EK con SARS-CoV-2, como ocurre en muchos estudios).

3.5.4 Similitudes y diferencias entre MIS-C y EK.

Originalmente se pensó que las características clínicas superpuestas de EK y MIS-C reflejaban un espectro de enfermedades, y algunos investigadores también han informado que sus respuestas inmunes del huésped existen como si fuese un mismo espectro continuo (161). Por el contrario, un creciente conjunto de datos sugiere que sus inmunofenotipos son distintos (162,163).

Mientras que MIS-C es el resultado de una respuesta inflamatoria grave al SARS-CoV-2, la EK prepandémica tiene un espectro de fenotipos que pueden resultar de diversos patógenos o estímulos ambientales. Estas observaciones sugieren que diferentes desencadenantes o diferentes intensidades de exposición pueden producir casos de EK que se agrupan temporalmente y comparten un patrón de respuesta similar. Esta hipótesis está respaldada por el hallazgo de que los casos de EK que ocurren en grupos temporales tienen características clínicas y de laboratorio más similares dentro de cada grupo de lo esperado por casualidad (164).

El MIS-C comparte rasgos clínicos y analíticos con la Enfermedad de Kawasaki y sus diferentes espectros clínicos (EK incompleta, EK atípica, EK con shock-EKS). Ambas condiciones se presentan como una fiebre persistente $> 38.0^{\circ}\text{C}$ (5 días para la EK, 3 días para MIS-C), seguidos de otros síntomas inespecíficos como vómitos, dolor abdominal y diarrea. Por otro lado, un gran número de niños con MIS-C también se presentaron con síntomas propios de la EK como son una erupción cutánea generalizada, inyección conjuntival, eritema orofaríngeo, hinchazón/enrojecimiento de los labios y, menos frecuente, adenopatía laterocervical. En algunas series, el porcentaje de pacientes con MIS-C que a su vez cumplían criterios de EK completa clásica podía llegar hasta el 30% (102,104,165).

En cuanto a los síntomas cardiovasculares, ambas presentaciones comparten similitudes y diferencias. En este punto, queremos detenernos en recordar que la EK también tiene una forma de presentación en forma de miocarditis/shock, conocida como EKSS (Enfermedad de Kawasaki Shock Syndrom). Kenegaye J. *et al.* (166) describieron las características clínicas y epidemiológicas de la EKSS en su artículo publicado en Pediatrics 2009. De un total de 187 pacientes con diagnóstico de EK, 13 cumplían los criterios de EKSS, lo que corresponde a una incidencia del 7%. Estos pacientes tenían unas características en comparación con los pacientes con EK clásica, que se recogen a continuación: mayor edad (> 8 años), raza hispanica, mayor proporción de síntomas digestivos, mayor elevación de PCR, mayor proporción de coagulopatía, presencia de anemia/plaquetopenia, mayor resistencia a IGIV con necesidad de 2ª línea de tratamiento, y mayor afectación cardíaca (proporción de miocarditis 31% y afectación coronaria del 62% vs 23%). Todas estas características, se han visto a posteriori, asociadas a factores de mal pronóstico dentro del propio MIS-C. Además, las propias definiciones de Síndrome Inflamatorio multisistémico (WHO, CDC, RCRPH) recomiendan incluir dentro de este síndrome inflamatorio a los pacientes que cumplan los criterios de esta enfermedad y el vínculo epidemiológico con la infección por SARS-CoV-2. Así pues, desde los orígenes, múltiples artículos y discusiones científicas acerca de cómo mirar y definir a este nuevo síndrome. Como ejemplos, destacamos lecturas del inicio de pandemia (167–169).

Separar el MIS-C del KDSS puede ayudar a detectarlo clínicamente, definirlo y tomar decisiones en cuanto a mejor tratamiento. Pero mantenerlo dentro del espectro de la EK, puede ayudar a entender mejor la fisiopatología de ambas entidades.

Como aspectos direccionadores identificados en las distintas series, y que han sido motivo ya de una publicación por nuestro grupo, encontramos que los pacientes con Enfermedad de Kawasaki relacionada con SARS-CoV-2 en comparación con pacientes con E. de Kawasaki no relacionada con SARS-CoV-2, suelen ser mayores (>6 años), asocian casi siempre síntomas gastrointestinales, parecen tener reactantes de fase aguda más elevados como PCR, PCT, ferritina, IL-6, presencia de trombocitopenia y un mayor riesgo de shock, hipotensión, afectación coronaria y disfunción miocárdica (104,170).

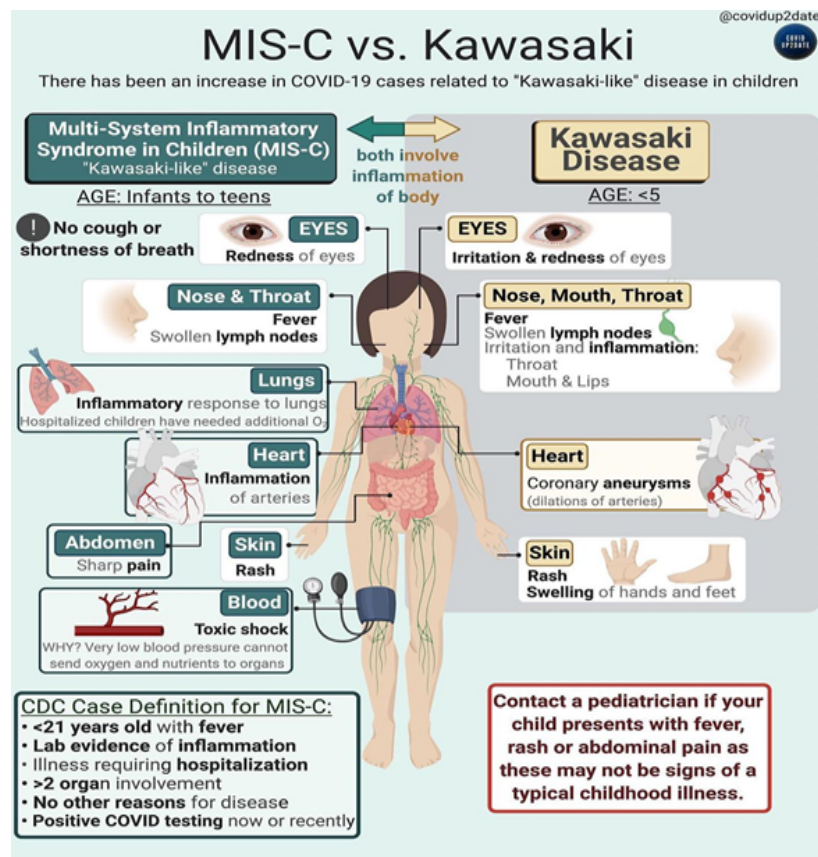


Figura 12. Iconografía que muestra las principales diferencias entre MIS-C y EK. Fuente: covidup2date. Adaptada por John Hopkins Med Students de Sharma C, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children and Kawasaki disease: a critical comparison. Nat Rev Rheumatol. 2021. (171).

Los pacientes con MIS-C a menudo tienen disfunción cardíaca predominante y síntomas gastrointestinales, además de diferencias de biomarcadores y citoquinas que parecen distintas de la enfermedad de Kawasaki (86,172). Un estudio observó que los pacientes más jóvenes (de 0 a 5 años) con MIS-C tenían más probabilidades de cumplir con los criterios de la EK en comparación con los adolescentes (48% frente a 12%), tenían una mayor prevalencia de síntomas mucocutáneos (87% frente a 62%) y tenían una menor prevalencia de miocarditis (39% frente a 73%) o síntomas neurológicos (13% frente a 39% de los adolescentes) (93).

JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

4 JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

La infección por el nuevo coronavirus SARS-CoV-2, iniciada en Wuhan, emerge y se propaga rápidamente constituyéndose pronto como pandemia. La infección muchas veces asintomática, produce en pacientes una enfermedad infecciosa que afecta a diferentes órganos definida como COVID-19. Un mes después de declarada la pandemia, en Reino Unido primero y poco después en Italia, Francia, Estados Unidos y en nuestro país, se comunicaron casos de niños con fiebre elevada, inestabilidad hemodinámica y fallo multiorgánico, que habían sido diagnosticados de infección por SARS-CoV-2 o habían estado en contacto con personas infectadas. Estos pacientes presentaban manifestaciones clínicas similares a las de la enfermedad de Kawasaki, una vasculitis de la infancia que puede afectar a las arterias coronarias y cuya causa es aún desconocida.

Se desconoce por qué precisamente los niños que presentan infecciones asintomáticas o clínicamente leves en general, desarrollan entre 2-6 semanas después de la infección un cuadro tan grave que compromete potencialmente su vida.

Cuatro años después, todavía existen muchas incógnitas en relación con esta nueva enfermedad. El conocimiento de la etiología, la incidencia, las formas de presentación clínica y los factores epidemiológicos asociados a peor pronóstico en el MIS-C permitirán un tratamiento más específico y una utilización más adecuada de los recursos. Precisamente este es el objetivo principal de este trabajo.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

5 HIPÓTESIS

1.- El MIS-C se expresa como una enfermedad inflamatoria post-infecciosa que se ha vinculado temporalmente a la infección por SARS-CoV-2. La presentación clínica incluye una variedad de síntomas y signos (según criterios WHO, CDC, Royal College), que incluyen diferentes fenotipos de presentación (fenotipo shock, fenotipo EK, fenotipo fiebre inflamatoria). El espectro clínico es muy similar a la EK, síndrome mucocutáneo asociado a vasculitis ya descrito en la infancia años atrás (1967).

- Pensamos que la presentación clínica del MIS-C tipo fenotipo EK, presenta características diferentes a los cuadros de EK no vinculados a SARS-CoV-2.

2.- Aún cuando la incidencia y prevalencia de MIS-C en Cataluña es similar a la de otros países, es importante determinar las formas de presentación en nuestro entorno, y si estas han sido distintas en función de las variantes virales de SARS-CoV-2 circulantes a lo largo de la pandemia.

- Nuestra hipótesis es que es muy probable que existan cambios de incidencia, prevalencia y de gravedad del fenotipo clínico de presentación de MIS-C en función de las diferentes variantes de SARS-CoV-2 y de cambios en otras condiciones (política de restricciones, programa de vacunación, robustez en la respuesta inmune por reinfecciones) durante la pandemia.

3.- El MIS-C se comporta como un síndrome post-infeccioso, pero seguimos sin saber por qué entre las 2-6 semanas tras la infección y/o vacunación frente a SARS-CoV-2, el paciente inicia de forma aguda la clínica que lo caracteriza. Es preciso identificar los potenciales factores de riesgo asociados a su presentación.

- Sugerimos que la respuesta inflamatoria asociada al SARS-CoV-2 estaría implicada directamente en el desarrollo de MIS-C, al igual que en la expresión de su gravedad, tal y como se ha constatado ya en la EK. De hecho, en la EK, la expresión de interleucinas tiene una firma característica conocida y estudiada,

vehiculizada sobre todo por la sobreexpresión de IL-1 y en ocasiones IL-6 e IL-18. Dada la similitud de presentación clínica entre ambas entidades, hipotetizamos que MIS-C pudiese compartir esta cascada inflamatoria post-infecciosa, o que incluso pudiese existir un perfil de interleucinas que sea diferenciador entre las dos enfermedades. Esta patología o el daño inflamatorio sistémico secundario también podría estar relacionada con la formación de inmunocomplejos.

6 OBJETIVOS

En relación con las hipótesis anteriores, los objetivos son:

1. Conocer las variables clínicas y epidemiológicas de los pacientes diagnosticados de síndrome inflamatorio multisistémico pediátrico vinculado a SARS-CoV-2, en nuestro entorno.

1.1 Describir las diferentes formas de presentación (signos, síntomas y afectación orgánica) y alteraciones analíticas de la enfermedad.

1.2 Determinar factores de riesgo de presentación de Síndrome inflamatorio multisistémico pediátrico vinculado a SARS-CoV-2.

1.3 Identificar las diferencias clínicas y analíticas entre la enfermedad de Kawasaki vinculada o no a SARS-CoV-2.

2. Estimar la incidencia de síndrome inflamatorio multisistémico pediátrico vinculado a SARS-CoV-2 en relación con datos de infección por SARS-CoV-2 en Cataluña.

2.1 Conocer la distribución de signos, síntomas y afectación de sistemas en la presentación clínica y analítica de la enfermedad durante las diferentes olas de la pandemia.

2.2 Objetivar si existen cambios de incidencia, de presentación clínica o alteraciones analíticas en relación con las variantes predominantes en cada etapa.

3. Identificar el patrón de generación de interleucinas en los pacientes con síndrome inflamatorio multisistémico pediátrico vinculado a SARS-CoV-2.

3.1 Comparar el patrón encontrado en pacientes con síndrome inflamatorio multisistémico pediátrico vinculado a SARS-CoV-2 con el patrón generado por pacientes con diagnóstico de enfermedad de Kawasaki y controles sanos.

3.2 Estudiar la existencia de inmunocomplejos circulantes en pacientes síndrome inflamatorio multisistémico pediátrico vinculado a SARS-CoV-2.

METODOLOGÍA Y RESULTADOS

7 MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 Primera publicación

Correspondence on: 'Paediatric multisystem inflammatory syndrome temporally associated with SARS-CoV-2 mimicking Kawasaki disease (Kawasaki disease): a multicentre cohort' by Pouletty *et al.*

Pino R, Izurieta A.C, Riera S,, Ricart S, Fernández de Sevilla. M, Sanchez J., Mosquera J.M, Jordan I., Sánchez de Toledo J., Monsonís M., Esteva C., Muñoz-Almagro C., Fumado V., Fortuny C., García J.J., Noguera A., Anton J.

- Revista: Annals of the Rheumatic Diseases 2022;81:e159.
- ISI Journal Citation Reports Ranking ® 2021: Q1.
- Factor de Impacto: 19,133

Responde a los objetivos:

1. Conocer las variables clínicas y epidemiológicas de los pacientes diagnosticados de MIS-C en nuestro entorno.

1.1 Describir las diferentes formas de presentación (signos, síntomas y afectación orgánica) y alteraciones analíticas de la enfermedad.

1.3 Identificar las diferencias clínicas y analíticas entre EK asociada o no a SARS-CoV-2.

Resumen de la primera publicación:

Objetivo: Describir la existencia de este nuevo síndrome descrito recientemente en nuestro centro. Comparar las características clínicas y analíticas entre pacientes con EK con y sin vinculación a SARS-CoV-2.

Pacientes y métodos: Durante los 2 primeros meses de pandemia (abril 2020-junio 2020), se detectaron un total de 12 pacientes que cumplían características de EK (completa o incompleta). A su vez, 6 pacientes cumplían criterios de MIS-C por criterio epidemiológico y/o serológico. Se analizan criterios clínicos y analíticos de la cohorte de estudio. Se comparan las características clínicas y analíticas entre los pacientes vinculados con SARS-CoV-2 y los que no.

Resultados: Las características clínicas de los niños con EK (n=12) se resumen en la tabla 1 del artículo. La mediana (rango) de edad fue de 4 años (3 meses a 11 y 8 meses) y en su mayoría eran de etnia caucásica (9/12). Previo al diagnóstico varios pacientes referían síntomas gastrointestinales (10/12, 83,3%; vómitos, diarrea y dolor abdominal) y neurológicos (5/12, 41,6%; irritabilidad, cefalea, obnubilación y convulsiones febriles). Se observaron linfopenia y trombocitopenia en el momento del diagnóstico en 8 y 5 pacientes, respectivamente. Los marcadores inflamatorios (PCR, ferritina, VSG y procalcitonina) estaban elevados en la mayoría de los pacientes, al igual que los niveles de NT Pro-BNP (mediana[rango]: 2930[178-7994]ng/L). Durante el ingreso, 6/12 (50%) pacientes mostraron evidencia microbiológica y/o serológica de infección por SARS-CoV-2. En comparación con los niños en los que no se demostró la infección por SARS-CoV-2, los primeros tenían recuentos estadísticamente significativos más bajos de linfocitos y plaquetas, y niveles más altos de marcadores inflamatorios (PCR, PCT y ferritina) y NT Pro-BNP en el momento del diagnóstico.

Conclusiones: Describimos una incidencia de EK superior a la esperada en un plazo muy breve (5 semanas) en Cataluña, estando asociada la mitad de los casos a la infección por SARS-CoV-2, en línea con la experiencia comunicada por otros autores. En comparación con la EK “clásica”, los casos de EK relacionados con el SARS-CoV-2

difieren en varias características clínicas y analíticas: los pacientes son mayores, presentan con más frecuencia síntomas respiratorios, gastrointestinales, neurológicos, y afectación cardiovascular, tienen recuentos estadísticamente significativos más bajos de linfocitos y plaquetas, y niveles más altos de marcadores inflamatorios (PCR, PCT y ferritina) y NT Pro-BNP en el momento del diagnóstico.

Correspondence on: 'Paediatric multisystem inflammatory syndrome temporally associated with SARS-CoV-2 mimicking Kawasaki disease (Kawa-COVID-19): a multicentre cohort' by Pouletty *et al*

We read with interest the article by Pouletty *et al*,¹ in which the authors describe a multicentre compilation of patients with Kawasaki disease (KD) in France, associated with the detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection. Other colleagues in Europe and USA have recently reported similar experiences.²⁻⁵

We report a prospective case series of paediatric patients that fulfilled clinical diagnostic criteria of KD during the SARS-CoV-2 pandemic in a paediatric referral centre in Barcelona, Spain. KD was defined according to the 2017 criteria of the American Heart Association.⁶ Assessment of SARS-CoV-2 infection was made by means of quantitative real-time PCR assay (GeneFinder COVID-19 Plus, Elitech; Puteaux, France) in nasopharyngeal samples; stools were tested in patients with diarrhoea. SARS-CoV-2 IgG qualitative determination (SARS-CoV-2 IgG chemiluminescent microparticle immunoassay; Abbot, Chicago, Illinois) was performed during admission. Statistical analyses were performed using SPSS V.25 (IBM). Informed consent was obtained from parents or legal guardians, as was informed assent in patients aged >12 years.

From March 23 to May 14, twelve previously healthy patients with KD were admitted to our institution (table 1). The yearly number of patients with KD diagnosed in our centre is around 10–12. Prior to diagnosis, several patients reported gastrointestinal symptoms (10/12, 83.3%; vomiting, diarrhoea and abdominal pain) and neurological symptoms (5/12, 41.6%; irritability, headache, decreased consciousness and febrile seizures). Only patient 10 was referred with respiratory symptoms (cough) and had an abnormal chest X-ray showing pneumonia at presentation. Lymphopenia and thrombocytopenia were observed at diagnosis in eight and five patients, respectively. Inflammatory markers (C-reactive protein, ferritin, erythrocyte sedimentation rate and procalcitonin) were elevated in most patients, as were N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels (median (range): 2930 (178–7994) ng/L).⁷

At or during admission, 6/12 (50%) patients showed microbiological and/or serological evidence of SARS-CoV-2 infection. As compared with children in whom SARS-CoV-2 infection was not demonstrated, the former had statistically significant lower platelet counts, and higher levels of inflammatory markers (C-reactive protein, procalcitonin and ferritin) and N-terminal pro-brain natriuretic peptide at diagnosis (table 2).

Ultrasound or clinical signs of cardiac involvement were noted at admission only in patient 8 (left and right coronary aneurysm, +4.7 and +4.8 Z-score). Coronary aneurysms were observed later in two further patients: on day 14 in patient 1 (left coronary aneurysm, 4.2 Z-score) and on day 12 in patient 10 (left coronary aneurysm, +3.6 Z-score). Patient 10 was a toddler who

Table 1 Clinical and laboratory features of 12 patients with Kawasaki disease who presented during the SARS-CoV-2 pandemic

Patient No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Complete KD							Incomplete KD				
Age, ethnicity	Infant, Latin	Infant, Caucasian	Infant, Caucasian	Toddler, Caucasian	Toddler, Caucasian	Toddler, Caucasian	Child, Caucasian	Infant, Asian	Toddler, Caucasian	Toddler, Black	Adolescent, Caucasian	Adolescent, Caucasian
Symptoms prior to diagnosis												
Duration (days)	6	4	5	5	7	5	4	7	7	4	7	7
Respiratory	No	No	No	No	Yes	No	No	No	No	Yes	No	No
Gastrointestinal	No	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Neurological	No	Yes	No	Yes	No	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No
KD signs at diagnosis												
Conjunctivitis	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No	Yes	Yes
Erythema mouth/pharynx	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes	No	No
Polymorphous rash	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes
Lymphadenopathy	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes
Erythema of the palms/soles	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No
Contact with SARS-CoV-2 case	No	No	No	No	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
SARS-CoV-2 RT-PCR in respiratory sample/stools	NEG/ND	NEG/POS	NEG/NEG	NEG/NEG	NEG/ND	NEG/NEG	NEG/NEG	NEG/NEG	NEG/ND	POS/ND	POS/ND	POS/ND
SARS-CoV-2 IgG	NEG	POS	NEG	NEG	NEG	POS	POS	NEG	NEG	POS	POS	POS
CRP (normal <15 mg/L)	184	73	46	42	33	165	173	128	133	229	276	241
PCT (normal <0.5 ng/mL)	0.08	3.1	0.11	0.21	0.14	6.75	6.7	0.51	0.07	4.65	3.97	2.11
Ferritin (normal <120 ng/mL)	114	358	66	450	96	67	604	219	142	563	>2000	1424
ESR (normal <15 mm/hour)	83	14	43	2	23	63	9	2	46	19	39	76
NT pro-BNP (normal <200 ng/L)	1416	647	178	291	457	7994	4510	3628	344	4840	2930	5500
Platelet count (normal 150–400×10 ⁹ /L)	449	129	373	129	509	296	149	249	456	170	117	76
Lymphopenia	No	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No	Yes	Yes
Treatment	IVIG followed by IVIG+mPDN	IVIG+mPDN	IVIG	IVIG	IVIG	IVIG	IVIG+mPDN	IVIG+mPDN	IVIG followed by IVIG+mPDN	IVIG	mPDN	None
Length of stay (days)	5	6	5	2	3	4	8	12	8	10	3	6

CRP, C-reactive protein; ESR, erythrocyte sedimentation rate; IVIG, intravenous immunoglobulin; KD, Kawasaki disease; mPDN, methylprednisolone; ND, not done; NEG, negative; NT pro-BNP, N-terminal pro-brain natriuretic peptide; PCT, procalcitonin; POS, positive; RT-PCR, real-time PCR; SARS-CoV-2, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2.

Correspondence

Table 2 Differences between patients with Kawasaki disease with and without SARS-CoV-2 infection

	Positive SARS-CoV-2 infection RT-PCR or serology (n=6)	Negative SARS-CoV-2 infection RT-PCR or serology (n=6)	P value
Female sex	3 (50.0)	3 (50.0)	1
Age (years)	5.3 (2.5–11.2)	2.1 (1.2–3.1)	0.078
Complete Kawasaki disease	3 (50.0)	4 (66.7)	0.55
Symptoms prior to diagnosis			
Respiratory	1 (16.7)	1 (16.7)	1
Gastrointestinal	6 (100)	4 (66.7)	0.45
Neurological	3 (50.0)	2 (33.3)	0.5
Development of aneurysms	1 (16.7)	2 (33.3)	0.5
Lab values at admission			
C-reactive protein (mg/L)	180 (119–252)	87 (40–146)	0.029
Procalcitonin (ng/mL)	4.65 (3.53–6.72)	0.12 (0.08–0.28)	0.02
Ferritin (ng/mL)	563 (212–1302)	127 (89–277)	0.065
ESR (mm/hour)	14 (7–41)	33 (2–55)	0.12
NT pro-BNP (ng/L)	4510 (1788–6417)	400 (263–1969)	0.015
Platelet counts (x10 ⁹ /L)	149 (114–233)	408 (219–469)	0.016
Lymphopenia	5 (83.3)	3 (50.0)	0.54

Data are expressed with n (%) or with medians and IQRs.

ESR, erythrocyte sedimentation rate; NT pro-BNP, N-terminal pro-brain natriuretic peptide; RT-PCR, real-time PCR; SARS-CoV-2, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2.

developed decreased consciousness, hypotension and clinical signs of hypoperfusion consistent with KD shock syndrome on day 3 of fever. Transfer to the paediatric intensive care unit was required and vasoactive support (for 48 hours) and non-invasive mechanical ventilation (for 3 days) were implemented, together with intravenous immunoglobulins (IVIG), methylprednisolone, hydroxychloroquine and azithromycin.

All patients were treated within 10 days of symptoms onset; only patient 12, with a self-limited incomplete KD, did not receive any immunomodulatory treatment. Median (range) duration of admission was 4 (2–12) days and all patients were discharged without incidents. Follow-up is ongoing in all cases.

We describe a higher than expected incidence of KD within a very short time frame (7 weeks) in Catalonia, compared with a historical series,⁸ with half of the cases being associated with SARS-CoV-2 infection, in line with the experience of other authors.^{2–5} Surprisingly, SARS-CoV-2-related KD cases were not reported in China, where the pandemic began and where the incidence of KD (40.9–55.1 per 100 000 children <5 years) is higher than in European countries.⁹

KD seems to be caused by a complex interaction between genetic and immunity factors, triggered by infections.^{6–10} Several pathogens have been found to be involved in the pathogenesis of KD, including coronaviruses.¹¹ As compared with 'classical' KD, SARS-CoV-2-related KD cases differ in several clinical characteristics: patients are older^{2–5}; present more often with respiratory, gastrointestinal or neurological symptoms³; and develop a more severe disease in terms of cardiovascular involvement.^{3–5} The incidence of coronary aneurysms in KD treated with IVIG ranges from 4% to 6%,¹² as compared with 25% in our series. Also, higher rates of leucopenia, lymphopenia and thrombocytopenia, as well as increased inflammation, have been reported.^{13–5} Interestingly, in our series, significant differences in these lab values were observed between patients with and those without confirmed SARS-CoV-2 infection. While preliminary, these differences point at an

association between SARS-CoV-2 infection and the pathogenesis of KD, beyond the temporal sequence.

Given the lack of evidence-based treatments for COVID-19, we treated the patients in our series according to available KD treatment guidelines,⁶ mainly IVIG (n=10) and steroids (n=6). Outcomes were good in all cases. We did not need to use other immunomodulatory drugs, such as anakinra or infliximab, as other authors have reported doing.^{2–5}

Our study is limited by low numbers, the short follow-up period and its observational design. Nevertheless, our series is in line with recent observational data that describe an association between SARS-CoV-2 infection and a paediatric inflammatory multisystem syndrome that shares a number of clinical and analytical features with KD in children. Further studies are needed to confirm the more pronounced inflammatory response we observed in those cases in which a SARS-CoV-2 infection was demonstrated.

Rosa Pino,¹ Ana Carolina Izurieta,¹ María Ríos-Barnés,² Sílvia Ricart,^{1,3} Mariona F De Sevilla,^{1,4} Laura Monfort,¹ Cristian Launes,^{1,4} Iván Cano,¹ Laura Lecina,¹ Judith Sánchez Manubens,^{5,6} Juan Manuel Mosquera,⁵ Iolanda Jordan,^{4,7} Joan Sánchez de Toledo,^{8,9} Manuel Monsonís,¹⁰ Cristina Esteva,^{4,11} Carmen Muñoz-Almagro,^{4,11} Victòria Fumadó,^{2,3} Clàudia Fortuny,^{2,4} Juan José García García,^{2,4} Antoni Noguera-Julian ,^{2,4} Jordi Anton,^{3,5} On behalf of the Kids Corona Project

¹Hospital Medicine Unit, Pediatrics Department, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain

²Infectious Diseases and Systemic Inflammatory Response in Pediatrics, Infectious Diseases Unit, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain

³Faculty of Medicine, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain

⁴CIBERESP, Madrid, Spain

⁵Pediatric Rheumatology Unit, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain

⁶Pediatric Rheumatology, Consorcio Corporación Sanitaria Parc Taulí, Sabadell, Barcelona, Spain

⁷Pediatric Intensive Care Department, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain

⁸Pediatric Cardiology Department, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain

⁹Department of Critical Care Medicine, Children's Hospital of Pittsburgh of University of Pittsburgh Medical Center, Pittsburgh, Pennsylvania, USA

¹⁰Department of Microbiology, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain

¹¹Department of Molecular Microbiology, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain

Correspondence to Professor Antoni Noguera-Julian, Hospital Sant Joan de Déu, Passeig Sant Joan de Déu 2, 08950 Esplugues, Barcelona, Spain; ton@sjdhospitalbarcelona.org

Contributors RP, JJ, VF, CF, JGG, ANJ and JA designed the study. RP, ACI, MRB, SR, MFDS, LM, CL, IC, LL, JSM, JMM, JSdT and VF collected the clinical data. MM, CE and CMA supervised the microbiological studies. RP, ANJ and JA analysed the data and wrote the paper. All authors have reviewed and approved the version submitted for publication.

Funding This work was supported by 'Subvencions per a la Intensificació de Facultatius Especialistes' (Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya, Programa PERIS 2016-2020) (SLT008/18/00193) to ANJ.

Competing interests CF has received funds for speaking at symposia organised on behalf of Gilead Sciences. JA has received grants, personal fees and non-financial support from Sobi; grants and personal fees from Novartis; grants from Roche; grants, personal fees and non-financial support from Pfizer; grants and personal fees from BMS; grants from Lilly; grants from Novimmune; grants and personal fees from Gebro; and grants, personal fees and non-financial support from AbbVie, outside the submitted work.

Patient and public involvement Patients and/or the public were not involved in the design, or conduct, or reporting, or dissemination plans of this research.

Patient consent for publication Not required.

Ethics approval This study was approved by the Hospital Sant Joan de Déu local ethics committee (Ref: PI-77-20).

Provenance and peer review Not commissioned; internally peer reviewed.

This article is made freely available for use in accordance with BMJ's website terms and conditions for the duration of the covid-19 pandemic or until otherwise determined by BMJ. You may use, download and print the article for any lawful,

non-commercial purpose (including text and data mining) provided that all copyright notices and trade marks are retained.

© Author(s) (or their employer(s)) 2020. No commercial re-use. See rights and permissions. Published by BMJ.

AN-J and JA contributed equally.



To cite Pino R, Izurieta AC, Ríos-Barnés M, *et al.* *Ann Rheum Dis* Epub ahead of print: [please include Day Month Year]. doi:10.1136/annrheumdis-2020-218538

Received 9 July 2020

Accepted 11 July 2020



► <http://dx.doi.org/10.1136/annrheumdis-2020-218614>

Ann Rheum Dis 2020;**0**:1–3. doi:10.1136/annrheumdis-2020-218538

ORCID iD

Antoni Noguera-Julian <http://orcid.org/0000-0001-7485-0583>

REFERENCES

- 1 Pouletty M, Borocco C, Ouldali N, *et al.* Paediatric multisystem inflammatory syndrome temporally associated with SARS-CoV-2 mimicking Kawasaki disease (Kawa-COVID-19): a multicentre cohort. *Ann Rheum Dis* 2020;79:999–1006.
- 2 Verdoni L, Mazza A, Gervasoni A, *et al.* An outbreak of severe Kawasaki-like disease at the Italian epicentre of the SARS-CoV-2 epidemic: an observational cohort study. *The Lancet* 2020;395:1771–8.
- 3 Whittaker E, Bamford A, Kenny J, *et al.* Clinical characteristics of 58 children with a pediatric inflammatory multisystem syndrome temporally associated with SARS-CoV-2. *JAMA* 2020. doi:10.1001/jama.2020.10369. [Epub ahead of print: 08 Jun 2020].
- 4 Feldstein LR, Rose EB, Horwitz SM, *et al.* Multisystem inflammatory syndrome in U.S. children and adolescents. *N Engl J Med* 2020. doi:10.1056/NEJMoa2021680. [Epub ahead of print: 29 Jun 2020].
- 5 Dufort EM, Koumans EH, Chow EJ, *et al.* Multisystem inflammatory syndrome in children in New York state. *N Engl J Med* 2020. doi:10.1056/NEJMoa2021756. [Epub ahead of print: 29 Jun 2020].
- 6 McCrindle BW, Rowley AH, Newburger JW, *et al.* Diagnosis, treatment, and long-term management of Kawasaki disease: a scientific statement for health professionals from the American heart association. *Circulation* 2017;135:927–99.
- 7 Gao L, Jiang D, Wen X-S, *et al.* Prognostic value of NT-proBNP in patients with severe COVID-19. *Respir Res* 2020;21:83.
- 8 Sánchez-Manubens J, Antón J, Bou R, *et al.* Incidence, epidemiology and clinical features of Kawasaki disease in Catalonia, Spain. *Clin Exp Rheumatol* 2016;34:S139–44.
- 9 Du Z-D, Zhao D, Du J, *et al.* Epidemiologic study on Kawasaki disease in Beijing from 2000 through 2004. *Pediatr Infect Dis J* 2007;26:449–51.
- 10 Yim D, Curtis N, Cheung M, *et al.* Update on Kawasaki disease: epidemiology, aetiology and pathogenesis. *J Paediatr Child Health* 2013;49:704–8.
- 11 Esper F, Shapiro ED, Weibel C, *et al.* Association between a novel human coronavirus and Kawasaki disease. *J Infect Dis* 2005;191:499–502.
- 12 Newburger JW, Takahashi M, Burns JC, *et al.* The treatment of Kawasaki syndrome with intravenous gamma globulin. *N Engl J Med* 1986;315:341–7.

7.2 Segunda publicación

Multisystem inflammatory syndrome in children and SARS-CoV-2 variants: a two-year ambispective multicentric cohort study in Catalonia, Spain.

Pino R, Antoñanzas JM, Paredes-Carmona F, Perramon A, Rivière JG, Coma M, Martínez-Mejías A, Ripoll F, López N, Conti R, Sala-Castellví P, Ruiz M, Brio S, García-Lorenzo M, Esteller M, Carreras-Abad C, Herrero-Hernando C, Schneider SO, Gatell A, Aguilar I, Cantero J, Ruiz G, Fenollosa T, Lobato Z, Villalobos P, Mora E, Anton J, Visa-Reñé N, Soler-Palacin P, Calavia O, Esquirol-Herrero C, Guarch-Ibañez B, García-García JJ, Coma E, Fina F, Prats C, Soriano-Arandes A.

- Revista: Eur J Pediatr. 2023 Feb 18:1–13.
- ISI Journal Citation Reports Ranking[®] 2021: Q1.
- Factor de Impacto: 3.86

Responde a los objetivos:

1. Conocer las variables clínicas y epidemiológicas de los pacientes diagnosticados de MIS-C en nuestro entorno.

1.1 Describir las diferentes formas de presentación (signos, síntomas y afectación orgánica) y alteraciones analíticas de la enfermedad.

2. Estimar la incidencia de MIS-C en relación con datos de infección por SARS-CoV-2 en Cataluña.

2.1 Conocer la distribución de signos, síntomas y afectación de sistemas en la presentación clínica y analítica de la enfermedad durante las diferentes olas de la pandemia.

2.2 Objetivar si existen cambios de incidencia, de presentación clínica o alteraciones analíticas en relación con las variantes predominantes en cada etapa.

Resumen de la segunda publicación:

Objetivo: En este estudio presentamos una gran cohorte de todos los casos de MIS-C atendidos en Cataluña (España) desde el inicio de la pandemia, tanto en atención hospitalaria como en atención primaria, gracias al esfuerzo del equipo multidisciplinar de la red COPEDICAT. Nuestro objetivo no solo fue estimar las principales características epidemiológicas del MIS-C, como la incidencia, referidas a nuestra población, sino también describir los hallazgos clínicos y de laboratorio, el tipo y las respuestas al tratamiento administrado y los resultados finales de la enfermedad a través de las diferentes ondas epidémicas de variantes del SARS-CoV-2.

Pacientes y Métodos: Estudio de cohorte observacional ambispectivo multicéntrico (abril de 2020– abril de 2022). Los datos se obtuvieron del sistema catalán de vigilancia de la COVID-19 y de todos los hospitales de Cataluña. Analizamos Casos de MIS-C con respecto a variantes de SARS-CoV-2 para datos demográficos, síntomas, gravedad, incidencia mensual de MIS-C, relación entre MIS-C y casos acumulados de COVID-19, y razones de tasas (RR) asociadas.

Resultados: Entre 555,848 infecciones por SARS-CoV-2, 152 niños fueron diagnosticado con MIS-C. La incidencia mensual de MIS-C fue de 4,1 (IC 95 %: 3,4–4,8) por 1.000.000 de personas y 273 (IC 95 %: 230–316) por 1.000.000 de infecciones por SARS-CoV-2 (es decir, un caso por 3.700 infecciones por SARS-CoV-2). Durante el período Omicron, el MIS-C RR fue de 8,2 (IC del 95 %: 5,7–11,7) por 1 000 000 de infecciones por SARS-CoV-2, que fue significativamente menor ($p < 0,001$) que el de las infecciones previas con otras variantes en todos los grupos de edad. La mediana de edad [RIC] de MIS-C fue de 8 [4-11] años, 62,5% varones y 80,2% sin comorbilidades. Los síntomas comunes

fueron hallazgos gastrointestinales (88,2%) y fiebre > 39 °C (81,6%); casi el 40% tenía una ecocardiografía anormal, y el 7% tenía aneurisma coronario. Las manifestaciones clínicas y los datos de laboratorio no fueron diferentes a lo largo de los períodos variantes ($p > 0,05$).

Conclusiones: El RR entre casos de MIS-C e infecciones por SARS-CoV-2 fue significativamente menor en el período Omicron para todos los grupos de edad, incluidos los no vacunados, lo que sugiere que la variante podría ser el factor principal de este cambio en la tendencia de aparición del MIS-C. Independientemente del tipo de variante, los pacientes tenían fenotipos y gravedad similares durante la pandemia.



Multisystem inflammatory syndrome in children and SARS-CoV-2 variants: a two-year ambispective multicentric cohort study in Catalonia, Spain

Rosa Pino¹ · Jesús M. Antoñanzas² · Fernando Paredes-Carmona³ · Aida Perramon² · Jacques G. Rivière⁴ · Maria Coma⁵ · Abel Martínez-Mejías⁶ · Francesc Ripoll⁷ · Núria López⁸ · Romina Conti⁹ · Pere Sala-Castellví¹⁰ · Montserrat Ruiz¹¹ · Sonia Brio¹² · Marc García-Lorenzo¹³ · Maria Esteller¹⁴ · Clara Carreras-Abad¹⁵ · Carlos Herrero-Hernando¹⁶ · Stephan Otto Schneider¹⁷ · Anna Gatell¹⁸ · Isabel Aguilar¹⁹ · Javier Cantero²⁰ · Gloria Ruiz²¹ · Teresa Fenollosa²² · Zulema Lobato²³ · Pilar Villalobos²⁴ · Emiliano Mora²⁵ · Jordi Anton¹ · Núria Visa-Reñé³ · Pere Soler-Palacin⁴ · Olga Calavia⁵ · Cristina Esquirol-Herrero⁶ · Borja Guarch-Ibañez⁷ · Juan-José García-García¹ · Ermengol Coma²⁶ · Francesc Fina²⁶ · Clara Prats² · Antoni Soriano-Arandes⁴

Received: 19 September 2022 / Revised: 1 February 2023 / Accepted: 3 February 2023 / Published online: 18 February 2023
© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2023

Abstract

Multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C) is a rare but severe disease temporarily related to SARS-CoV-2. We aimed to describe the epidemiological, clinical, and laboratory findings of all MIS-C cases diagnosed in children < 18 years old in Catalonia (Spain) to study their trend throughout the pandemic. This was a multicenter ambispective observational cohort study (April 2020–April 2022). Data were obtained from the COVID-19 Catalan surveillance system and from all hospitals in Catalonia. We analyzed MIS-C cases regarding SARS-CoV-2 variants for demographics, symptoms, severity, monthly MIS-C incidence, ratio between MIS-C and accumulated COVID-19 cases, and associated rate ratios (RR). Among 555,848 SARS-CoV-2 infections, 152 children were diagnosed with MIS-C. The monthly MIS-C incidence was 4.1 (95% CI: 3.4–4.8) per 1,000,000 people, and 273 (95% CI: 230–316) per 1,000,000 SARS-CoV-2 infections (i.e., one case per 3,700 SARS-CoV-2 infections). During the Omicron period, the MIS-C RR was 8.2 (95% CI: 5.7–11.7) per 1,000,000 SARS-CoV-2 infections, which was significantly lower ($p < 0.001$) than that for previous variant periods in all age groups. The median [IQR] age of MIS-C was 8 [4–11] years, 62.5% male, and 80.2% without comorbidities. Common symptoms were gastrointestinal findings (88.2%) and fever > 39 °C (81.6%); nearly 40% had an abnormal echocardiography, and 7% had coronary aneurysm. Clinical manifestations and laboratory data were not different throughout the variant periods ($p > 0.05$).

Conclusion: The RR between MIS-C cases and SARS-CoV-2 infections was significantly lower in the Omicron period for all age groups, including those not vaccinated, suggesting that the variant could be the main factor for this shift in the MIS-C trend. Regardless of variant type, the patients had similar phenotypes and severity throughout the pandemic.

What is Known:

- Before our study, only two publications investigated the incidence of MIS-C regarding SARS-CoV-2 variants in Europe, one from Southeast England and another from Denmark.

What is New:

- To our knowledge, this is the first study investigating MIS-C incidence in Southern Europe, with the ability to recruit all MIS-C cases in a determined area and analyze the rate ratio for MIS-C among SARS-CoV-2 infections throughout variant periods.
- We found a lower rate ratio of MIS-C/infections with SARS-CoV-2 in the Omicron period for all age groups, including those not eligible for vaccination, suggesting that the variant could be the main factor for this shift in the MIS-C trend.

Keywords MIS-C associated with COVID-19 · SARS-CoV-2 variants · Pediatrics · Epidemiology · Severity

Communicated by Peter de Winter.

✉ Antoni Soriano-Arandes
tsorianoarandes@gmail.com; toni.soriano@vallhebron.cat

Extended author information available on the last page of the article

Abbreviations

ALT	Alanine aminotransferase
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CI	Confidence interval
CMV	Cytomegalovirus infection
COPEDI-CAT	Pediatric COVID-19 research network in Catalonia
COVID-19	Coronavirus disease 2019
EBV	Epstein Barr virus
ECMO	Extracorporeal membrane oxygenation
HLH	Hemophagocytic lymphohistiocytosis
IgG	Immunoglobulin G
IL-1	Interleukin-1
IMV	Invasive mechanical ventilation
IQR	Interquartile range
IVIG	Intravenous immunoglobulin
KD	Kawasaki disease
L	Liter
MAS	Macrophage activation syndrome
MIS-C	Multisystem inflammatory syndrome in children
NIV	Non-invasive ventilation
<i>p</i>	<i>p</i> -Value for statistical significance
RCPCH	Royal College of Paediatrics and Child Health
pg/ml	Picograms per milliliter
PICU	Pediatric intensive care unit
Pro-BNP	N-terminal prohormone of brain natriuretic peptide
REDCap®	Research Electronic Data Capture
RR	Rate ratio
RT-PCR	Reverse transcriptase polymerase chain reaction
SARS-CoV-2	Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2
UI/L	International units per liter
UK	United Kingdom
US	United States
WHO	World Health Organization
w.r.t.	With regard to

Introduction

In December 2019, the new SARS-CoV-2 emerged in China. To date, severe COVID-19 in children remains infrequent; most of them are asymptomatic or exhibit mild symptoms during the acute phase of the infection, in contrast to adults [1].

However, SARS-CoV-2 infection has been associated with MIS-C, which develops approximately 2 to 6 weeks after mild or asymptomatic infection, although some cases

have also been described during the acute infection [2]. The case definition of MIS-C has been established by different institutions such as the WHO (May 15, 2020) [3], the US CDC (May 14, 2020) [4], and the Royal College of Paediatrics and Child Health in the UK (May 1, 2020) [5]. The clinical features of this syndrome have been widely defined and described in several report series, overlapping features of KD, toxic shock syndrome, bacterial sepsis, and macrophage-activation syndrome [6–9]. Recently, it has also been described in some patients after vaccination with mRNA vaccines [10].

Even so, differential characteristics have been observed in MIS-C cases, leading more frequently to shock due to myocardial dysfunction [9]. Additionally, children require timely recognition and prompt start of immunosuppressive treatment, such as IVIG, high dose of methylprednisolone and/or IL-1 inhibitor drugs in refractory cases.

The MIS-C incidence among all SARS-CoV-2 infections has been difficult to determine throughout the pandemic, given the high rate of asymptomatic infection in the pediatric population. In Catalonia (Spain), systematic screening in the schools for all the classmates of COVID-19 cases was maintained from September 2020, after the first pandemic wave [11], to January 2022. This protocol enabled the detection of most of the asymptomatic pediatric cases that otherwise would not have been diagnosed [12]. However, whether this risk for MIS-C is sustained with new SARS-CoV-2 variants and vaccination remains unknown.

In this study, we analyzed a large cohort of all consecutive MIS-C cases diagnosed and treated in Catalonia, Spain, since the onset of the pandemic, thanks to the effort of the multidisciplinary COPEDI-CAT network team. We aimed not only to estimate the main MIS-C epidemiological characteristics, but also to describe the clinical and laboratory findings, the type and responses to the treatment administered and the final outcomes of the disease across the different SARS-CoV-2 variant epidemic waves.

Materials and methods

Study design and study population

This is a multicenter ambispective observational cohort study of patients aged < 18 years old in Catalonia (Spain) diagnosed with MIS-C during the period from April 20, 2020, to April 30, 2022. The WHO definition criteria were used for the inclusion of the cases [3]. Children were excluded from this study, according with the MIS-C definition, if the pediatrician attending the case had an alternate probable etiology of the disease such as bacterial infection, toxic shock syndrome, KD, HLH or MAS, rickettsia, viral

syndrome, lupus, and vasculitis. They also were excluded if information regarding the MIS-C diagnosis was missing or if another diagnosis was made after hospitalization.

Data sources and data analysis

Epidemiological and clinical data were obtained from the COVID-19 Catalan surveillance system and medical records of all hospitals in Catalonia. Demographic, laboratory and clinical data were collected from hospital patient history and uploaded to the REDCap® database. The phenotype, severity, and incidence of MIS-C were compared in different periods regarding predominant variants (> 50% of random samples) in our location: the Wuhan type April 2020–February 2021 [13], the Alpha February 2021–June 2021 [14], the Delta June 2021–December 2021 [15], and the Omicron December 2021–April 2022. In addition, we used the six epidemiological periods (based on successive waves, independent of variants) defined by the Spanish Public Health authorities to study the evolution of MIS-C cases regarding COVID-19 incidence [16]. MIS-C was divided by age groups regarding vaccination recommendations (0–5 years, 6–11 years, 12–17 years). Vaccination status was verified through searches of national immunization information systems, including children's vaccine cards. Patients were considered unvaccinated if they had received no doses, partially vaccinated if they had received one dose, and completely vaccinated if they had received two doses (the second dose > 14 days before the MIS-C episode). They were considered immunized if they received one dose with a documented SARS-CoV-2 infection and had a documented SARS-CoV-2 infection.

MIS-C incidence per SARS-CoV-2 infection

Monthly MIS-C incidence rate per 1,000,000 people in all variant-associated periods was estimated by dividing the number of the monthly reported MIS-C cases by the number of < 18 years old people. In addition, we also calculated the rate between MIS-C cases and COVID-19 cases (from – 30 days w.r.t. the MIS-C interval [2]) in each epidemiological wave and variant-associated period. The public health authorities in Catalonia launched a protocol in September 2020 for testing all the exposed children within bubble groups in the schools (contacts of the initial case at school) [11, 12], which was maintained until the end of January 2022, when Omicron was the prevalent variant. All the health districts or regions in Catalonia followed the same protocol, the diagnostic effort in the pediatric population was maintained everywhere throughout the pandemic.

Schools remained open between September 2020 and the end of the study period.

Statistical analyses

MIS-C cases during the pandemic were analyzed according to the different SARS-CoV-2 predominant variants. Demographics, clinical findings, and phenotypes concerning organ involvement, hypotension, and need for admission in the PICU, laboratory characteristics, and specific treatment were included in the predominant variant-related analysis. Statistical analyses were performed with R (v4.2.0) and Python (v3.7.13). Quantitative variables are presented as the median and IQR, and categorical variables are presented as the number of children for each category and the corresponding percentage. Fisher's exact tests were used to compare categorical variables between groups; z-tests were performed for analyzing MIS-C monthly incidence and rate. Kruskal–Wallis test was used to compare groups for quantitative variables. Benjamini and Hochberg correction was used for a more conservative measure of significance for multiple comparisons in results (excluding MIS-C rate and monthly incidence). RR and its 95% CI were computed to compare rates of MIS-C and SARS-CoV-2 infections between variant periods. For all tests, the results were considered significant if $p < 0.05$. The Alpha type period was excluded from most of the analyses due to the low data volume, and the Wuhan period, prior to 1st July 2020, was excluded from the MIS-C rate analyses because of the low testing capacity at that time.

Results

Epidemiology data

One hundred fifty-two children were recruited, corresponding to the whole number of MIS-C cases during this study period. Regarding the SARS-CoV-2 variant periods, 73, 5, 44, and 30 cases were diagnosed for Wuhan, Alpha, Delta, and Omicron periods, respectively (Table 1).

Demographic data

The median (IQR) age was 8 (4–11) years; 62.5% were male, and 80.2% did not have any comorbidities. COVID-19 was previously diagnosed in 45.4% (69/152) of patients and was mostly asymptomatic. Nearly 60% (91/152) were Caucasian, 15% (23/152) were Hispanic, and 8.6% (13/152) were Black African, among other ethnicities (Table 2). None of them died.

Table 1 MIS-C cases ($n=152$), SARS-CoV-2 infections, MIS-C incidence and rate between MIS-C cases and SARS-CoV-2 infections (from— 30 days w.r.t. the MIS-C interval) by SARS-CoV-2 variant. Population references (by group) for incidences are constant throughout all variants

Incidences per variants								<i>p</i> -val
	Age group/sex	Whole study period	Wuhan period (pre-Jul 1)	Wuhan period (post-Jul 1)	Alpha period	Delta period	Omicron period	
MIS-C cases, n (%)	Total	152 (100)	16 (100)	57 (100)	5 (100)	44 (100)	30 (100)	-
	0–4	41 (27.0)	6 (37.5)	16 (28.1)	3 (60.0)	9 (20.4)	7 (23.3)	-
	5–11	74 (48.7)	6 (37.5)	25 (43.8)	1 (20.0)	27 (61.4)	15 (50.0)	-
	12–17	37 (24.3)	4 (25.0)	16 (28.1)	1 (20.0)	8 (18.2)	8 (23.7)	-
	Female	57 (37.5)	6 (37.5)	21 (36.8)	4 (80.0)	18 (40.9)	8 (23.7)	-
	Male	95 (62.5)	10 (62.5)	36 (63.2)	1 (20.0)	26 (59.1)	22 (73.3)	-
SARS-CoV-2 infections	Total	555,848 (100)	654 (100)	78,158 (100)	28,812 (100)	81,814 (100)	366,410 (100)	-
	0–4	89,883 (16.2)	173 (26.5)	12,674 (16.2)	4226 (14.7)	11,388 (13.9)	61,422 (16.8)	-
	5–11	242,430 (40.2)	189 (28.9)	28,905 (46.8)	11,019 (47.1)	35,934 (42.2)	166,383 (37.8)	-
	12–17	223,535 (43.6)	292 (44.6)	36,579 (37.0)	13,567 (38.2)	34,492 (43.9)	138,605 (45.4)	-
	Female	272,806 (49.1)	339 (51.8)	38,355 (49.1)	13,877 (48.2)	41,175 (50.3)	179,060 (48.9)	-
	Male	283,042 (50.9)	315 (48.2)	39,803 (50.9)	14,935 (51.8)	40,639 (49.7)	187,350 (51.1)	-
MIS-C monthly incidence ($\times 10^6$)	Total	4.1	3.6	5.0	0.8	4.9	4.6	0.68^a
	0–4	5.0	6.1	6.4	2.3	4.6	4.8	0.85 ^a
	5–11	4.9	3.3	5.5	0.4	7.5	5.7	0.28 ^a
	12–17	2.6	2.4	3.7	0.4	2.4	3.2	0.7 ^a
	Female	3.1	2.8	3.8	1.4	4.1	2.5	0.6 ^a
	Male	4.9	4.3	6.1	0.3	5.6	6.5	0.73 ^a
Rate between MIS-C cases and SARS-CoV-2 infections ($\times 10^6$)	Total	273	24,465^S	729	174	538	82	<0.001^b
	0–4	456	34,682 ^S	1262	710	790	114	<0.001 ^b
	5–11	305	31,746 ^S	865	91	751	90	<0.001 ^b
	12–17	166	13,699 ^S	437	74	232	58	<0.001 ^b
	Female	209	17,699 ^S	548	288	437	45	<0.001 ^b
	Male	336	31,746 ^S	905	67	640	117	<0.001 ^b
Rate ratio (Omicron reference)	Total	-	*	8.9 (5.7–13.8)	2.1 (0.8–5.5)	6.6 (4.1–10.4)	1	-
	0–4	-	*	11.1 (4.6–26.9)	6.2 (1.6–24.1)	6.9 (2.6–18.6)	1	-
	5–11	-	*	9.6 (5.1–18.2)	1.0 (0.1–7.6)	8.3 (4.4–15.7)	1	-
	12–17	-	*	7.6 (3.2–17.7)	1.3 (0.2–10.2)	4.0 (1.5–10.7)	1	-
	Female	-	*	12.2 (5.4–27.7)	6.5 (1.9–21.4)	9.8 (4.3–22.5)	1	-
	Male	-	*	7.7 (4.5–13.1)	0.6 (0.1–4.2)	5.4 (3.1–9.6)	1	-

*Rate ratio is not included for the Wuhan period before July 1, 2020, due to the lack of methods available for COVID-19 diagnosis elsewhere in Catalonia, Spain

^a*P*-values come from two-sided z-tests ($\alpha=0.05$) excluding the Alpha period

^b*P*-values come from two-sided z-tests ($\alpha=0.05$) excluding the Wuhan period (before July 1, 2020)

^SThe values of the MIS-C rate in Wuhan before July 1, 2020, are unable to be compared with the values for other periods (Wuhan after July 1, 2020, Alpha, Delta, and Omicron) due to the lack of access to COVID-19 diagnosis in the former period. Therefore, the analysis comparing the rates across the variants does not include the period of Wuhan before July 1, 2020

Laboratory evidence of SARS-CoV-2 data

In Fig. 1, we describe the cohort of children regarding the results for serological (SARS-CoV-2 positive IgG) and microbiological tests for SARS-CoV-2, and vaccination against COVID-19. The median [IQR] time between the

SARS-CoV-2 infection and the MIS-C diagnosis was 5.1 [4.2–6.3] weeks, with a range of 0.4–14.6 weeks. Overall, 131 (86.2%) tested positive by SARS-CoV-2 IgG, 33 (21.7%) tested positive by SARS-CoV-2 RT-PCR, and 5 (3.3%) tested positive by rapid antigen testing (Fig. 1).

Table 2 MIS-C bivariable analysis for epidemiological, clinical, laboratory, echocardiography, and hospital outcomes according to SARS-CoV-2 variant periods

	All MIS-C <i>n</i> : 152, 100%	Wuhan period <i>n</i> : 73, 48%	Alpha period <i>n</i> : 5, 3%	Delta period <i>n</i> : 44, 29%	Omicron period <i>n</i> : 30, 20%	<i>p</i> -val ^a
Rate ($\times 10^6$)^b	273	926	173	538	82	<0.001
Monthly incidence ($\times 10^6$)	4.1	4.6	0.8	4.9	4.6	<0.001
Demographic and COVID-19 related findings						
Gender, <i>n</i> (%)						
Male	95 (62.5)	46 (63.0)	1 (20.0)	26 (59.1)	22 (73.3)	0.83
Female	57 (37.5)	27 (37.0)	4 (80.0)	18 (40.9)	8 (26.7)	-
Age (years), median (IQR)	8 (4–11)	8 (4–12)	4 (2–5)	8 (5–10)	8 (5.25–11.75)	0.87
Ethnicity/race, <i>n</i> (%)						
Caucasian	91 (59.9)	48 (65.8)	2 (40.0)	20 (45.5)	21 (70.0)	0.47
Hispanic (Latin America)	23 (15.1)	8 (11.0)	1 (20.0)	10 (22.7)	4 (13.3)	0.69
Black African	13 (8.6)	8 (11.0)	1 (20.0)	3 (6.8)	1 (3.3)	0.83
Arabic	12 (7.9)	3 (4.1)	0 (0.0)	7 (15.9)	2 (6.7)	0.47
Asian	7 (4.6)	3 (4.1)	1 (20.0)	1 (2.3)	2 (6.7)	1
Other/mixed	6 (4.0)	3 (4.1)	0 (0.0)	3 (6.8)	0 (0.0)	0.83
Recent COVID-19 infection, <i>n</i> (%)	69 (45.4)	29 (42.7)	2 (40.0)	23 (52.3)	15 (50.0)	0.83
SARS-CoV-2 at MIS-C diagnosis, <i>n</i> (%)						
RT-PCR positive	33 (21.7)	19 (26.0)	2 (40.0)	8 (18.2)	4 (13.3)	0.47
RAT positive	5 (3.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (2.3)	4 (13.3)	0.13
IgG SARS-CoV-2 positive at MIS-C diagnosis, <i>n</i> (%)	131 (86.2)	64 (87.7)	3 (60.0)	41 (93.2)	23 (76.7)	0.47
Clinical findings (<i>n</i> (%))						
Fever at admission	150 (98.7)	71 (97.3)	5 (100.0)	44 (100.0)	30 (100.0)	1
Fever (> 39)	124 (81.6)	57 (78.1)	5 (100.0)	36 (81.8)	26 (86.7)	1
Rash	90 (59.2)	42 (58.3)	4 (80.0)	25 (56.8)	19 (63.3)	1
Conjunctivitis	83 (54.6)	33 (45.2)	4 (80.0)	22 (50.0)	24 (80.0)	0.13
Oral lesions	55 (36.2)	25 (34.3)	1 (20.0)	13 (29.6)	16 (53.3)	0.47
Cervical lymphadenopathy (> 1.5 cm)	29 (19.1)	11 (15.1)	0 (0.0)	11 (25.0)	7 (23.3)	0.79
Gastrointestinal symptoms	134 (88.2)	65 (89.0)	2 (40.0)	39 (88.6)	28 (93.3)	1
Respiratory symptoms	35 (23.0)	16 (21.9)	1 (20.0)	11 (25.0)	7 (23.3)	1
Neurologic symptoms	19 (12.5)	11 (15.1)	0 (0.0)	8 (18.2)	1 (3.3)	0.66
Hypotension/shock	81 (53.3)	42 (57.5)	0 (0.0)	23 (52.3)	16 (53.3)	1
PICU admission	68 (44.7)	36 (49.3)	0 (0.0)	19 (43.2)	13 (43.3)	1
Laboratory results						
Hemoglobin (g/dL), median (IQR)	11.8 (10.9–12.7)	12 (11.0–12.6)	11.1 (10.7–11.9)	11.4 (10.8–12.0)	12.5 (11.1–12.9)	0.69

Table 2 (continued)

	All MIS-C <i>n</i> : 152, 100%	Wuhan period <i>n</i> : 73, 48%	Alpha period <i>n</i> : 5, 3%	Delta period <i>n</i> : 44, 29%	Omicron period <i>n</i> : 30, 20%	<i>p</i> -val ^a
Leukocytes (10⁹/L), median (IQR)	9.45 (6.35–13.00)	9.55 (6.4–13.3)	9.8 (7.7–10.93)	8.19 (5.64–11.4)	9.55 (6.4–13.3)	0.47
Platelets (10⁹/L) median (IQR)	171 (114–232.25)	162 (110–230)	327 (211–330)	170.5 (132.5–227.5)	167 (103.5–229)	0.47
Platelets < 150 (10⁹/L), <i>n</i> (%)	92 (60.5)	30 (41.1)	0 (0.0)	17 (38.6)	13 (43.3)	1
Lymphocytes < 1.0 (10⁹/L), <i>n</i> (%)	75 (49.3)	37 (50.7)	2 (40.0)	22 (50.0)	16 (53.3)	1
CPR (mg/dL), median (IQR)	17.25 (11.28–24.82)	17.2 (10.73–25.7)	21.8 (15.9–23.39)	16.5 (12.55–22.36)	17.75 (10.95–25.57)	1
Procalcitonin (ng/mL), median (IQR)	3.7 (1.43–10.67)	3.67 (1.45–7.43)	3.16 (2.25–4.07)	2.46 (1.24–6.48)	7.0 (2.6–17.45)	0.78
Ferritin (ng/mL), median (IQR)	399 (237–640)	393 (193.5–569.5)	547 (496.25–592.92)	350 (240.0–575.25)	631.5 (332.75–1460.25)	0.47
IL-6 (ng/L), median (IQR)	162.29 (52–380.9)	100.6 (31.37–248.52)	308 (275.45–387.35)	182.55 (92.27–385.17)	206.75 (82.75–392.17)	0.67
Pro-BNP (pg/mL), median (IQR)	2411.0 (583.1–5804.5)	3277.0 (1006.0–7726.5)	1093.0 (306.475–2212.5)	1401.5 (301.5–4132.0)	2230.5 (675.5–10,049.7)	0.47
D-dimer (ng/mL), median (IQR)	2150.5 (1187.75–4192.5)	1999 (854–5030)	1719 (1624–1857.5)	2652 (1487.5–3948.5)	2039 (1630–5130)	0.96
ALT (IU/L), <i>n</i> (%)						
< 50	91 (59.9)	42 (57.5)	1 (20.0)	32 (72.7)	16 (53.3)	0.76
> 250	4 (2.6)	3 (4.1)	1 (20.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0.96
Echocardiography						
Pathologic echocardiography	60 (39.5)	31 (42.5)	2 (40.0)	16 (36.4)	11 (36.7)	0.96
Ventricular dysfunction	22 (14.5)	12 (16.4)	0 (0.0)	6 (13.6)	4 (13.3)	0.83
Coronary abnormalities	15 (9.8)	9 (12.3)	0	4 (9.1)	2 (6.7)	0.96
Hospital stay						
Length of hospital stay (days), median (IQR)	7 (5–9)	7 (5–10.25)	6 (5–9)	7 (5–8)	5 (4–8)	0.75
PICU admission, <i>n</i> (%)	68 (44.7)	36 (49.3)	0 (0.0)	19 (43.2)	13 (43.3)	1
Length of PICU stay (days), median (IQR)	4 (2–5)	5 (3–5.25)	-	3 (2–5)	3 (2–5)	0.67

The periods were Wuhan type variant April 2020–December 2020, Alpha variant January 2021–July 2021, Delta variant July 2021–December 2021, Omicron variant December 21–February 2022

ECMO extracorporeal membrane oxygenation, PICU pediatric intensive care unit, IL-6 interleukin 6, IQR interquartile range, MIS-C multisystem inflammatory syndrome in children, NT-proBNP N-terminal pro b-type natriuretic peptide, RT-PCR reverse transcription polymerase chain reaction, RAT rapid antigen test, SARS-CoV-2 severe acute respiratory syndrome coronavirus 2

^a*P*-values ($\alpha=0.05$) come from Kruskal–Wallis tests in the case of quantitative variables and Fisher's exact tests in the case of categorical variables (except for MIS-C rate and incidence, where z-tests were performed). The Alpha period has been excluded from all tests except from MIS-C rate. *p*-values reported, except for MIS-C rate and incidence, have been adjusted, together for Tables 2 and 3, using the Benjamini and Hochberg method, to account for multi-testing

^bFor the analysis of the rate between MIS-C cases and COVID-19 cases across SARS-CoV-2 variants, the Wuhan period is excluded for the calculation of the *p*-value due to the lack of COVID-19 diagnosis occurring in the first pandemic wave (no access to diagnosis methods such as RT-PCR or RAT). This leads to a bias for the estimation of the ratio (overestimated) in this period

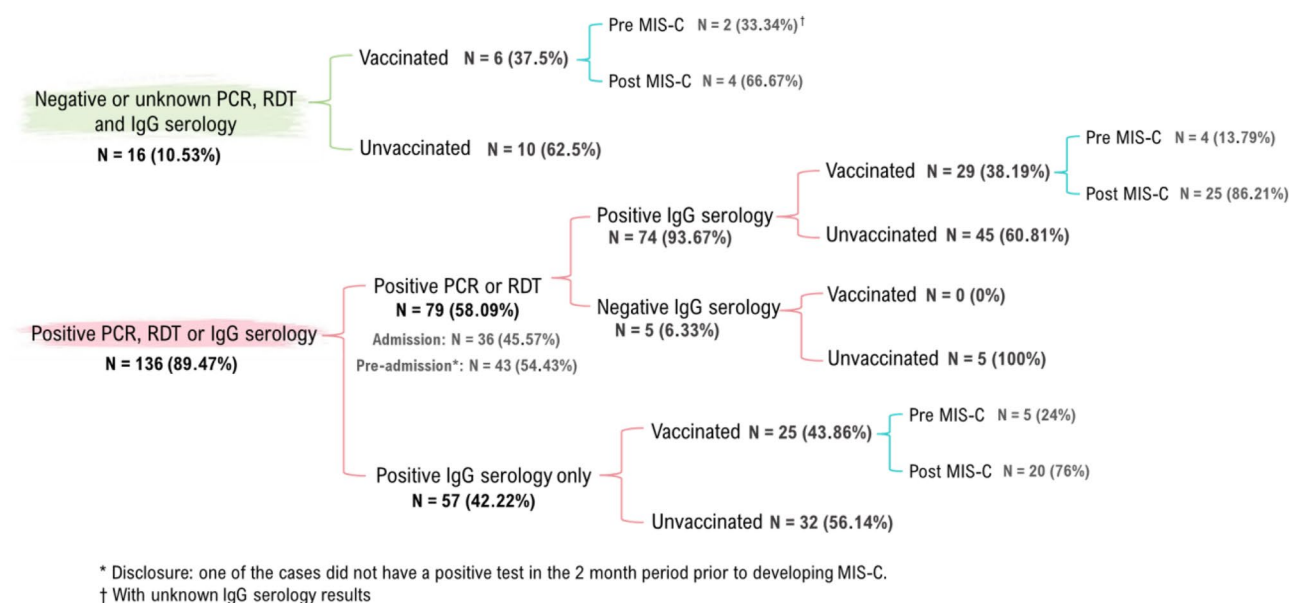


Fig. 1 Description of the cohort of children with MIS-C cases recruited during the study period regarding the results for serological (positive SARS-CoV-2 IgG) and microbiological tests for SARS-CoV-2 and vaccination against COVID-19

Clinical presentation at admission

Fever at admission was the main clinical finding (150/152, 98.7%), with a median (IQR) of 4 (3–6) days before the MIS-C diagnosis, and 81.6% had $> 39^{\circ}\text{C}$. Two children had no fever at admission: a 6-year-old child testing positive for SARS-CoV-2 IgG serology at admission with a positive PCR for SARS-CoV-2 five weeks earlier, with a hyperacute ischemic infarction in the deep vascular territory of the left medial cerebral artery; and a 6-month-old child diagnosed with myocarditis (ejection fraction $< 30\%$) testing positive for SARS-CoV-2 PCR at admission.

Gastrointestinal symptoms (88.2%), and rash or skin lesions (59.2%) were the most common clinical findings; 81 (53.3%) had signs of shock (defined as reduced awareness, hypotension, hyperventilation and fluid administration), and 68 (44.7%) were admitted to the PICU. Regardless of the SARS-CoV-2 variant, patients had similar severity profile (Table 2).

Laboratory and echocardiography findings

Thrombocytopenia ($< 150 \times 10^9/\text{L}$) was observed in 92 (60.5%) patients, and lymphopenia ($< 1.0 \times 10^9/\text{L}$) in 75 (49.3%) cases. Acute phase reactants were markedly elevated for all the patients, as well as evidence of coagulopathy (Table 2). ALT was normal in 91 children (59.9%) and elevated $> 250 \text{ UI/L}$ in only four children. 81 children (53.3%) showed clinical features of cardiovascular involvement. Pro-BNP was higher than 2000 pg/mL in 65 (42.8%) patients.

Echocardiography was abnormal in 60 children (39.5%), 22 with ventricular dysfunction (14.5%), and 11 with coronary aneurysm (7.2%).

Treatment and early treatment response

Specific treatments administered to the MIS-C cases are described in Table 3. Most of them (147/152; 96.7%) received immune modulating treatment (5.5% only IGIV, 12.3% only steroids and 82.2% combination of IGIV and steroids). Steroids were administered initially at 2 mg/kg , 1 mg/kg and mega-doses in 89/138 (64.5%), 28/138 (20.3%), and 19/138 (13.8%) children, respectively. Five patients did not receive specific treatment as they were diagnosed at the beginning of the pandemic when protocols were not well defined. We did not find any significant differences in the treatment administered across the SARS-CoV-2 variant periods. Anakinra (anti-IL-1) was administered to only one patient with refractory MIS-C.

Association between vaccination and MIS-C

Among the 152 children with MIS-C, only 11 (7.2%) were vaccinated against SARS-CoV-2 before the diagnosis: 5 with a single dose and 6 fully vaccinated; 8/11 (72.7%) received the vaccine < 12 weeks before the onset of MIS-C [Supplementary Information (SI)]. Forty-nine (32.2%) patients were vaccinated after the diagnosis of MIS-C taking into account the Catalan public health authorities recommendations.

Table 3 Bivariable analysis of the treatment of MIS-C cases according to SARS-CoV-2 variant periods

Characteristics	All MIS-C	Wuhan period	Alpha period	Delta period	Omicron period	<i>p</i> -val
Immunomodulatory^a	146	67	5	44	30	0.39
Only IGIV (<i>n</i> = 8)	8 (5.5)	6 (9.0)	0 (0.0)	1 (2.3)	1 (3.3)	0.76
Only steroids (<i>n</i> = 18)	18 (12.3)	7 (10.4)	1 (20.0)	7 (15.9)	3 (10.0)	0.86
IGIV and steroids (<i>n</i> = 120)	120 (82.2)	54 (80.6)	4 (80.0)	36 (81.8)	26 (86.7)	0.71
First IGIV (<i>n</i> = 13) ^b	13 (10.8)	7 (13.0)	1 (25.0)	2 (5.6)	3 (11.5)	0.96
IGIV and steroids at once (<i>n</i> = 88) ^b	88 (73.3)	37 (68.5)	3 (75.0)	27 (75.0)	21 (80.8)	0.67
First steroids (<i>n</i> = 11) ^b	11 (9.2)	6 (11.1)	0 (0.0)	3 (8.3)	2 (7.7)	1
Unknown order (<i>n</i> = 8) ^b	8 (6.7)	4 (7.4)	0 (0.0)	4 (11.1)	0 (0.0)	0.7
Steroids (days of treatment), median [IQR]	11 [4–22]	19 [4–25]	4 [3.5–16.5]	6.5 [4–17]	9 [5–13]	1
Anakinra (<i>n</i> = 1)	1 (0.7)	1 (0.7)	0	0	0	1
Adjuvant treatment^c (MIS-C cases)	152	73	5	44	30	1
Oxygen treatment	7 (4.6)	5 (6.8)	0	2 (4.6)	0	0.83
ECMO	1 (0.7)	1 (1.4)	0	0	0	1
IMV	3 (2.0)	2 (2.7)	0	1 (2.3)	0	1
NIV	3 (2.0)	2 (2.7)	0	1 (2.3)	0	1
Hemofiltration	2 (1.3)	1 (1.4)	0	0	1 (3.3)	0.83
Inotropic	48 (31.6)	24 (32.9)	0	14 (31.8)	10 (33.3)	1
Antibiotics	124 (81.6)	59 (80.8)	5 (100)	36 (81.8)	24 (80.0)	1
Other treatments ^d	40	24	0	13	3	0.47

^aTotal number of cases (*n*) refers to all the cases for which steroids, IGIV, or both of them were administered

^bPercentages for subcategories refer to the number of cases receiving IGIV and/or steroids

^cTotal number of cases (*n*) refers to all MIS-C cases included in the study

^dOther treatments include: AAS (*n* = 29), enoxaparin (*n* = 11), hydroxychloroquine (*n* = 2), remdesivir (*n* = 1), insulin (*n* = 1), vitamin K (*n* = 1)

Estimated monthly MIS-C incidence per 1,000,000 people

There are 1,361,915 children (< 18 years) in Catalonia. Since the beginning of the pandemic until 30th April 2022, the mean monthly MIS-C incidence was 4.1 cases per 1,000,000 people (95% CI: 3.5–4.7), significantly lower in females throughout the study period (*p* = 0.006). Additionally, the incidence was significantly higher for children aged 0–4 and 5–11 years (5.0 and 4.9 per 1,000,000 people, respectively) than for adolescents aged 12–17 years (2.6 per 1,000,000) (Fig. 2 and Table 1).

MIS-C rate per 1,000,000 SARS-CoV-2 infections

During the study period 555,848 children were diagnosed with SARS-CoV-2 infection. The MIS-C rate per 1,000,000 SARS-CoV-2 infections was 273 (95% CI: 230–316) (i.e., one case per 3,700 SARS-CoV-2 infections). The MIS-C rate by age groups was: 456 (95% CI: 336–619) among children aged 0–4 years, 305 (95% CI: 243–383) among 5–11 years, and 166 (95% CI: 120–228) among 12–17 years (Table 1). There were significant differences between children aged

0–4 and 5–11 (*p* = 0.048), 0–4 and 12–17 (*p* < 0.001), and 5–11 and 12–17 (*p* = 0.003) (Table 1).

There was not a statistically significant difference between males and females, except for the Omicron period where a predominance on male was documented (*p* = 0.02) (Table 1).

Comparison of the incidence and rates of MIS-C between different variants and waves

No significant differences in monthly MIS-C incidence per 1,000,000 people were observed between the variant periods (*p* = 0.68). There was a significantly lower RR of MIS-C in the Omicron period compared to the Wuhan or Delta periods, for all the age groups and sexes (Table 1). The 95% CI confirms the significant differences of the sixth wave, mostly corresponding to the Omicron period, compared to the second, third and fifth waves. The first and fourth pandemic waves were not included in this analysis due to the lack of diagnostic tests and very low MIS-C incidence, respectively. Figure 3 a and b show the MIS-C rate throughout the different waves, by sex and age group.

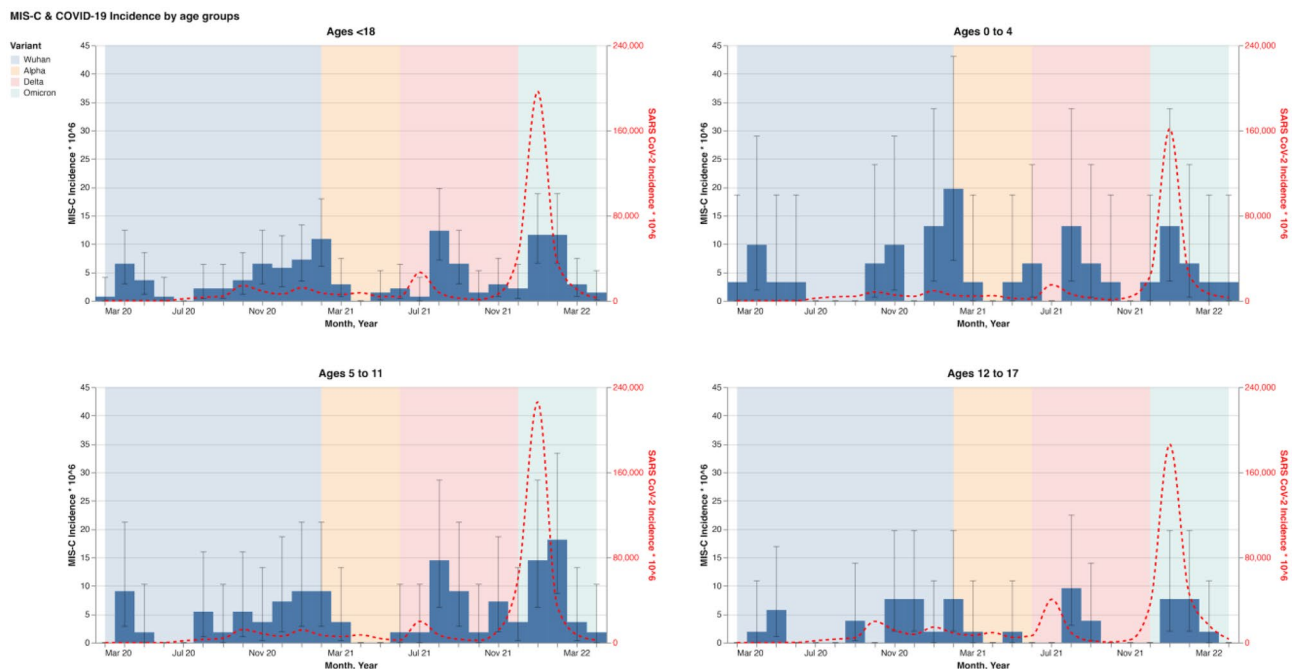


Fig. 2 Blue boxes show the MIS-C incidences ($\times 10^6$) by age-groups (<18 years old, 0–4 years old, 5–11 years old, and 12–17 years old) for each variant period. The discontinuous red line describes the SARS-CoV-2 incidence ($\times 10^6$) through the periods

Discussion

To our knowledge, this is the first study investigating MIS-C incidence in Southern Europe, with the ability to recruit all the MIS-C cases in a determined area, and analyze the RR for MIS-C among SARS-CoV-2 infections throughout variant periods. We found a lower RR of MIS-C/infections with SARS-CoV-2 in the Omicron period for all age groups, including those not eligible for vaccination.

Overall, we diagnosed 152 MIS-C cases among 1,361,915 children in Catalonia, with a monthly MIS-C incidence of 4.1

cases per 1,000,000 people (95% CI: 3.5–4.7). Incidence was significantly lower in females and adolescents (12–17 years old), even before the initiation of vaccination in this age group, but no differences were observed across the SARS-CoV-2 variant periods. This data confirms that MIS-C is a very rare complication of SARS-CoV-2 infection, even though our incidence is higher than the one reported in Liguria (Italy) [17], but like the US [18] and Sweden [19].

We analyzed the incidence rate for MIS-C among the previously diagnosed SARS-CoV-2 infections. Although this variable is affected by the infection diagnostic capacity, the

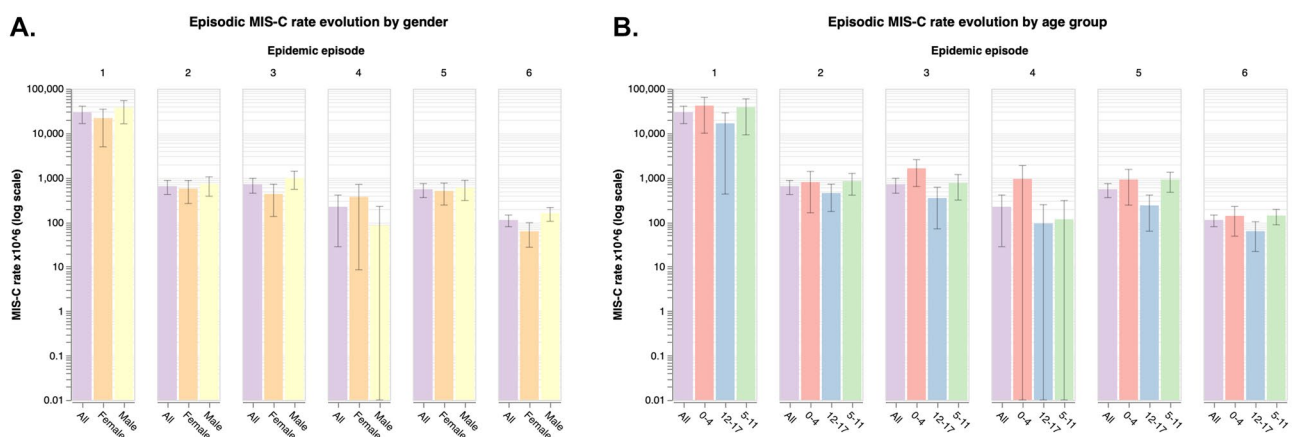


Fig. 3 MIS-C rate ($\times 10^6$) in log scale according to the six epidemiological periods for COVID-19 pandemic. **A** shows the distribution of MIS-C by epidemiologic period and gender (whole population (all),

female, male) and **B** shows the distribution of MIS-C by epidemiologic period and age-groups (whole population (all), 0–4, 5–11, and 12–17 years)

sustained surveillance protocols in the schools, with systematic screening of all classmates each time a positive case was detected, guaranteed a sustained diagnostic effort among the pediatric population between September 2020 and January 2022 [11, 12]. Omicron showed the significantly lowest MIS-C incidence rate compared to the high number of infected children in all age groups in that period. Moreover, the diagnostic effort was lower after the end of January 2022 because of the relaxation in the surveillance and quarantine measures in the schools [Supplementary Information (SI)], as seen with the increase in the positivity rate, so the MIS-C rate during the Omicron period is likely overestimated because the denominator might be much higher than the reported. This would entail even higher RR in pre-Omicron variant periods than the ones we estimated (Table 1). Possible hypotheses to explain this shift include the Omicron variant itself due to a better viral clearance secondary to stronger immune responses during acute SARS-CoV-2 infection and, subsequently, less persistence in sanctuaries [20]. Other potential explanations include the high-prevalence of SARS-CoV-2 infection among the general population after two years of pandemic, or the high percentage of people who were fully vaccinated against SARS-CoV-2, among other unknown factors. Regarding the variant factor, our results are in concordance with a South African study performed during the Omicron period [21], and with another study conducted in South East England [22]. However, a recent report from the CDC found that MIS-C cases continued to be an important complication of SARS-CoV-2 infection during the last variant-periods [23].

Our current understanding of the immunopathology of SARS-CoV-2 and MIS-C is growing, but still limited. COVID-19 mRNA vaccine immunogenicity and effectiveness are well established in adolescents, and the preventive effect of vaccination on the incidence of MIS-C has been already described [24, 25]. A recent population-based cohort study in Denmark demonstrated the effectiveness of COVID-19 vaccination in preventing this complication during the Delta and Omicron period [26]. On the other hand, very few MIS-C cases have been reported following COVID-19 vaccination [27]. Therefore, the optimal SARS-CoV-2 vaccine strategy for patients with a history of MIS-C remains unclear, as demonstrated in a recent survey conducted by pediatricians from different countries [28]. In our study, only eight patients had been vaccinated against COVID-19 in the previous 12 weeks before the MIS-C episode compared to 102 unvaccinated MIS-C cases that were eligible for vaccination due to their age. None of the vaccinated differed from the unvaccinated regarding the associated risk factors for severity. On the other hand, our study includes 49 children vaccinated against COVID-19, 37 with a single dose and 12 fully vaccinated, after the MIS-C episode. None of them had a relapse of MIS-C after vaccination.

In our cohort of MIS-C cases, Black African were 8.6% in contrast to the proportion of these people living in Catalonia (1.3%) [29]. This is in concordance with previous reports from Europe [30] and the US [18], suggesting an increased susceptibility of this population to present MIS-C after COVID-19.

Clinical manifestations and laboratory findings in our cohort were similar to those previously reported. We did not find any significant differences across the SARS-CoV-2 variants (Table 2 and SI), in contrast to a study conducted in Israel where a decrease of severity of MIS-C was observed during the Omicron period [31].

Our cohort was mainly treated with a combination of IVIG and steroids, with no significant difference in the treatment of MIS-C throughout the variant periods. None of the patients in our cohort died during the acute phase or the follow-up.

This study has some limitations. Firstly, we conducted an ambispective study, so the first MIS-C cases were recruited retrospectively and, consequently, some cases could have misdiagnosed as KD in the first months. Accordingly, we did not include the pre-July 2020 cases in the MIS-C rate analysis. Secondly, a cautious interpretation of the results during the Alpha wave is needed due the small numbers of patients reported in this period; therefore, this period was neither included in the same analysis. Thirdly, we were unable to determine the exact time between SARS-CoV-2 infection and MIS-C diagnosis in more than 50% of the cases (Table 2), and the information regarding the sequencing of the variants of those MIS-C cases with a confirmed previous SARS-CoV-2 infection. However, we consider that this limitation does not affect the main outcomes of our study, since it was taken into account in our analysis. We defined the rate in each period instead of the rate per variant, using a 4-week period between the infection and the MIS-C case. All variants achieved prevalence rates higher than 90%, which supports the appropriate classification of most episodes. In addition, the analysis per epidemiological wave confirms the variant-related findings. We performed the same analysis using a delay of 5 weeks, according to the median delay in our study, and the results were similar. In fact, the percentage of cases in the boundaries between periods, which could potentially be assigned to a different period if the delay was changed, was small.

Our study is the first to compare the clinical presentation and laboratory findings through the different variant periods, and vaccination status in children. Regardless of variant period, the patients had similar phenotypes concerning severity and type of treatment. We estimated a lower MIS-C rate per SARS-CoV-2 infection for all age-groups, including those not vaccinated, during the Omicron period, suggesting that the variant could be the main factor for this shift in the MIS-C trend. Acquisition of knowledge on the MIS-C regarding different SARS-CoV-2 variants is crucial

for estimating MIS-C hospitalizations in the future, and in the debate on COVID-19 vaccination of children.

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s00431-023-04862-z>.

Acknowledgements To all the COPEDI-CAT researchers for their great and tireless work through the pandemic, to Spider's Web translation website, and especially to Cristina Roman and Jane Perkins for their English style review of the manuscript.

Authors' contributions This is a multidisciplinary study with contribution from pediatricians collecting data of their patients, biophysics exploring and analyzing the data, and epidemiologists interpreting and putting the data in context. Conceptualization, R.P., F.P., C.P., and A.S.-A.; funding acquisition, C.P. and A.S.-A.; investigation, data collection, and resources, all authors; methodology, data curation, and data analysis, R.P., J.M.A., C.P., A.P., E.C., F.F., and A.S.-A.; writing-original draft preparation, R.P., C.P., J.M.A., and A.S.-A.; writing-review and editing, all authors; visualization, all the authors; supervision, R.P., C.P., and A.S.-A. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding This study has received funding for the data analysis from the "Fundació la Marató TV3" with file number 202134–30–31.

Data availability It's attached the dataset we used for this study, the link is the following: https://drive.google.com/file/d/1peba_EYJ5la6qbuXvEXdL6oFk96mx69T/view?ts=63e63893

Declarations

Ethics approval The study was reviewed and approved by the research ethics committee of the coordinating center (PR(AMI)271/2021). All the participating sites obtained their approval from the respective ethics committees for the collection of data related to the MIS-C cases. This research was based on the agreement established in Regulation 2016/679 of the European Parliament and the Council of Europe of April 27, 2016 on Data Protection, and Organic Law 3/2018 of December 5 on the Protection of Personal Data and the Guarantee of Digital Rights.

Consent to participate Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

Competing interests The authors declare no competing interests.

References

- Dong Y, Mo X, Hu Y et al (2020) Epidemiology of COVID-19 Among Children in China. *Pediatrics* 145(6):e20200702. <https://doi.org/10.1542/peds.2020-0702>
- Moraleda C, Serna-Pascual M, Soriano-Arandes A et al (2021) Multi-inflammatory Syndrome in Children Related to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in Spain. *Clin Infect Dis* 72(9):e397–e401. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1042>
- Multisystem Inflammatory Syndrome in children and adolescents with COVID-19. WHO/2019-nCoV/Sci_Brief/Multisystem_Syndrome_Children/2020.1
- Dufort EM, Koumans EH, Chow EJ et al (2020) New York State and Centers for Disease Control and Prevention Multisystem Inflammatory Syndrome in Children Investigation Team. Multisystem inflammatory syndrome in children in New York State. *N Engl J Med* 383(4):347–358
- Royal College of Paediatrics and Child Health. Guidance paediatric multisystem inflammatory syndrome temporally associated with COVID-19 (PIMS). Available from: <https://www.rcpch.ac.uk/resources/guidance-paediatric-multisystem-inflammatory-syndrome-temporally-associated-covid-19-pims>
- Riphagen S, Gomez X, Gonzalez-Martinez C, Wilkinson N, Theocharis P (2020) Hyperinflammatory shock in children during COVID-19 pandemic. *Lancet* 395(10237):1607–1608. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31094-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31094-1)
- Verdoni L, Mazza A, Gervasoni A et al (2020) An outbreak of severe Kawasaki-like disease at the Italian epicentre of the SARS-CoV-2 epidemic: an observational cohort study. *Lancet* 395(10239):1771–1778. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31103-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31103-X)
- Pino R, Izurieta AC, Ríos-Barnés M et al (2020) Correspondence on: 'Paediatric multisystem inflammatory syndrome temporally associated with SARS-CoV-2 mimicking Kawasaki disease (Kawa-COVID-19): a multicentre cohort' by Pouletty et al. *Ann Rheum Dis*. 2020 Aug 5:annrheumdis-2020-218538. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2020-218538>
- Vogel TP, Top KA, Karatzios C et al (2021) Multisystem inflammatory syndrome in children and adults (MIS-C/A): Case definition & guidelines for data collection, analysis, and presentation of immunization safety data. *Vaccine* 39(22):3037–3049. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.01.054>
- Ouldali N, Bagheri H, Salvo F et al (2022) Hyper inflammatory syndrome following COVID-19 mRNA vaccine in children: A national post-authorization pharmacovigilance study. *Lancet Reg Health Eur* 100393. <https://doi.org/10.1016/j.lanepe.2022.100393>
- Perramon A, Soriano-Arandes A, Pino D et al (2021) Schools as a Framework for COVID-19 Epidemiological Surveillance of Children in Catalonia, Spain: A Population-Based Study. *Front Pediatr* 9:754744. <https://doi.org/10.3389/fped.2021.754744>
- Pla d'actuació per al curs 2020–2021 per a centers educatius en el marc de la pandèmia per COVID-19. Barcelona: Departament de Salut (2020). <http://hdl.handle.net/11351/5235>. Accessed 5 Aug 2022
- Martró E, Saludes V, Escales A et al (2021) Analysis of the Alpha variant substitution dynamics of SARS-CoV-2 in Catalonia (Spain): contribution of the space. In: Analysis and prediction of COVID-19 for EU-EFTA-UK and other countries. *Rep Coll Sit Rep* 248:8–15. Available from: https://biocomsc.upc.edu/en/shared/20210625_report_248.pdf
- Ciruela P, Sabrià A, Serrano C, Ferrer C, Mendoza S, Mendioroz J (2021) Week Variant Surveillance Report. Public Health Secretariat. Health Department. Generalitat de Catalunya. Week 27 - 2021 (05/07/21–11/07/21). Accessible from: https://canalsalut.gencat.cat/web/content/_Professionals/Vigilancia_epidemiologica/snmc/variants-genomiques-sars-cov-2/Informe-noves-variants-genomiques.-SARS-CoV-2_Set.-27_Castella.pdf
- Ciruela P, Sabrià A, Serrano C, Ferrer C, Mendoza S, Mendioroz J (2021) Week Variant Surveillance Report. Public Health Secretariat. Health Department. Generalitat de Catalunya. Week 01 - 2022(03/01/22–09/01/22). Accessible from: https://www.google.com/url?q=https://canalsalut.gencat.cat/web/content/_Professionals/Vigilancia_epidemiologica/snmc/variants-genomiques-sars-cov-2/informe-variants-genomiques-sars-cov-01-01-22-es.pdf
- RENAVE (Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica), Informe nº 127 (2022) Situación de COVID-19 en España. Surveillance report. Instituto de Salud Carlos III, Gobierno de España. Accessible from: <https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/INFORMES/Informes>
- Castagnola E, Mariani M, Sticchi C et al (2022) Incidence rate of MIS-C in paediatrics: A good reason to vaccinate children against SARS-CoV-2. *Acta Paediatr* 111(1):123–124. <https://doi.org/10.1111/apa.16081>

18. Payne AB, Gilani Z, Godfred-Cato S, et al. Incidence of Multisystem Inflammatory Syndrome in Children Among US Persons Infected With SARS-CoV-2. *JAMA Netw Open*. 2021;4(6):e2116420. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.16420>.
19. Rhedin S, Lundholm C, Horne AC et al (2022) Risk factors for multisystem inflammatory syndrome in children - A population-based cohort study of over 2 million children. *Lancet Regional Health* 19:e100443
20. Brodin P (2022) SARS-CoV-2 infections in children: understanding diverse outcomes. *Immunity* 55:201–209
21. Cloete J, Kruger A, Masha M et al (2022) Pediatric hospitalisations due to COVID-19 during the first SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529) variant wave in South Africa: a multicentre observational study. *Lancet Child Adolesc Health* 6(5):294–302
22. Cohen JM, Carter MJ, Ronny Cheung C, Ladhani S (2022) Evelina PIMS-TS Study Group. Lower Risk of Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C) with the Delta and Omicron variants of SARS-CoV-2. *Clin Infect Dis* 5:ciac553. <https://doi.org/10.1093/cid/ciac553>
23. Miller AD, Yousaf AR, Bornstein E et al (2022) Multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C) during SARS-CoV-2 Delta and Omicron variant circulation - United States, July 2021 - January 2022. *Clin Infect Dis* 10:ciac471. <https://doi.org/10.1093/cid/ciac471>. Epub ahead of print
24. Zambrano LD, Newhams MM, Olson SM et al (2022) Effectiveness of BNT162b2 (Pfizer- BioNTech) mRNA Vaccination Against Multisystem Inflammatory Syndrome in Children Among Persons Aged 12–18 Years - United States, July–December 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 71(2):52–58
25. Levy M, Recher M, Hubert H et al (2022) Multisystem Inflammatory Syndrome in Children by COVID-19 Vaccination Status of Adolescents in France. *JAMA* 327(3):281–283. <https://doi.org/10.1001/jama.2021.23262>
26. Holm M, Espenhain L, Glenthøj J, Schmidt LS, Nordly SB, Hartling UB, Nygaard U (2022) Risk and Phenotype of Multisystem Inflammatory Syndrome in Vaccinated and Unvaccinated Danish Children Before and During the Omicron Wave. *JAMA Pediatr* 176(8):821–823. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2022.2206>
27. Karatzios C, Scuccimarri R, Chédeville G, Basfar W, Bullard J, Stein DR (2022) Multisystem Inflammatory Syndrome Following SARS-CoV-2 Vaccination in Two Children. *Pediatrics* 150(2):e2021055956. <https://doi.org/10.1542/peds.2021-055956>
28. Hoste L (2022) MIS-C researchers, Soriano-Arandes A, Buddingh EP, et al. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Vaccination in Children with a History of Multisystem Inflammatory Syndrome in Children: An International Survey. *J Pediatr* 19:S0022–3476(22)00438–3. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2022.05.028>
29. <https://www.idescat.cat/poblacioestrangera/?geo=cat&nac=a&b=11&lang=en>. Accessed 5 Aug 2022
30. Swann OV, Holden KA, Turtle L et al (2020) Clinical characteristics of children and young people admitted to hospital with covid-19 in United Kingdom: prospective multicentre observational cohort study. *BMJ* 370:m3249. <https://doi.org/10.1136/bmj.m3249>
31. Levy N, Koppel JH, Kaplan O, Yechiam H, Shahr-Nissan K, Cohen NK, Shavit I (2022) Severity and Incidence of Multisystem Inflammatory Syndrome in Children During 3 SARS-CoV-2 Pandemic Waves in Israel. *JAMA*. <https://doi.org/10.1001/jama.2022.8025>. Epub ahead of print. PMID: 35588048

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.

Authors and Affiliations

Rosa Pino¹ · Jesús M. Antoñanzas² · Fernando Paredes-Carmona³ · Aida Perramon² · Jacques G. Rivière⁴ · Maria Coma⁵ · Abel Martínez-Mejías⁶ · Francesc Ripoll⁷ · Núria López⁸ · Romina Conti⁹ · Pere Sala-Castellví¹⁰ · Montserrat Ruiz¹¹ · Sonia Brio¹² · Marc García-Lorenzo¹³ · Maria Esteller¹⁴ · Clara Carreras-Abad¹⁵ · Carlos Herrero-Hernando¹⁶ · Stephan Otto Schneider¹⁷ · Anna Gatell¹⁸ · Isabel Aguilar¹⁹ · Javier Cantero²⁰ · Gloria Ruiz²¹ · Teresa Fenollosa²² · Zulema Lobato²³ · Pilar Villalobos²⁴ · Emiliano Mora²⁵ · Jordi Anton¹ · Núria Visa-Reñé³ · Pere Soler-Palacin⁴ · Olga Calavia⁵ · Cristina Esquirol-Herrero⁶ · Borja Guarch-Ibañez⁷ · Juan-José García-García¹ · Ermengol Coma²⁶ · Francesc Fina²⁶ · Clara Prats² · Antoni Soriano-Arandes⁴

Clara Prats
clara.prats@upc.edu

- ¹ Paediatrics Department, Hospital Sant Joan de Déu, Universitat de Barcelona, Esplugues, Barcelona, Catalonia, Spain
- ² Department of Physics, Universitat Politècnica de Catalunya, Barcelona, Catalonia, Spain
- ³ Hospital Universitari Arnau de Vilanova, Lleida, Catalonia, Spain
- ⁴ Paediatric Infectious Diseases and Immunodeficiencies Unit, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Vall d'Hebron Barcelona Hospital Campus, Passeig de La Vall d'Hebron, 119-129, 08035 Barcelona, Catalonia, Spain

- ⁵ Hospital Universitari Joan XXII, Tarragona, Catalonia, Spain
- ⁶ Consorci Sanitari Terrassa, Terrassa, Catalonia, Spain
- ⁷ Unitat d'Infectologia Pediàtrica de Girona ICS-IAS, Hospital Universitari Josep Trueta, Girona, Catalonia, Spain
- ⁸ Hospital del Mar, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Catalonia, Spain
- ⁹ Consorci Sanitari Parc Taulí, Sabadell, Catalonia, Spain
- ¹⁰ Hospital Universitari General de Catalunya, Sant Cugat del Vallés, Barcelona, Catalonia, Spain
- ¹¹ Hospital Universitari de Vic, Vic, Barcelona, Catalonia, Spain
- ¹² Hospital Universitari de La Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Catalonia, Spain

- ¹³ Hospital Universitari Sant Joan de Reus, Tarragona, Catalonia, Spain
- ¹⁴ EAP Terres de L'Ebre, Tarragona, Catalonia, Spain
- ¹⁵ Paediatric Infectious Diseases Unit, Hospital Universitari Germans Trias I Pujol, Badalona, Catalonia, Spain
- ¹⁶ Department of Pediatrics, Hospital de Barcelona, Societat Cooperativa d'Instal·lacions Assistencials Sanitàries (SCIAS), Barcelona, Catalonia, Spain
- ¹⁷ Fundació Hospital d'Olot I Comarcal de La Garrotxa, Olot, Girona, Catalonia, Spain
- ¹⁸ Equip d'Atenció Primària de Pediatria Garraf, Institut Català de La Salut, Vilanova I La Geltrú, Catalonia, Spain
- ¹⁹ CAP Camps Blancs, Institut Català de La Salut, Sant Boi de Llobregat, Barcelona, Catalonia, Spain
- ²⁰ Corporació de Salut del Maresme I La Selva, Barcelona-Girona, Catalonia, Spain
- ²¹ Pediatria Dels Pirineus SCCLP, Lleida, Catalonia, Spain
- ²² CAP Gran Sol, Badalona, Catalonia, Spain
- ²³ Althaia, Xarxa Assistencial Universitària de Manresa (Fundació Althaia), Catalonia, Barcelona, Spain
- ²⁴ Fundació Salut Empordà, Girona, Catalonia, Spain
- ²⁵ Hospital Mútua de Terrassa, Barcelona, Catalonia, Spain
- ²⁶ Sistemes d'Informació Dels Serveis d'Atenció Primària (SISAP), Institut Català de La Salut (ICS), Barcelona, Catalonia, Spain

7.3 Tercera publicación

Similarities and differences between the immunopathogenesis of COVID-19-related pediatric inflammatory multisystem syndrome and Kawasaki disease.

Ana Esteve-Sole, Jordi Anton, Rosa Pino, Judith Sanchez-Manubens, Victoria Fumadó, Claudia Fortuny-Guasch, María Rios, Joan Sanchez de Toledo, Mónica Girona-Alarcón, Juan Manuel Mosquera, Silvia Ricart, Cristian Launes, Mariona Fernández de Sevilla, Cristina Jou, Carmen Muñoz-Almagro, Eva González-Roca, Andrea Vergara, Manel Juan, Daniel Cuadras, Antoni Noguera-Julian, Yolanda Jordan, Laia Alsina.

- Revista: *J Clin Invest.* 2021;131(6):e144554
- ISI Journal Citation Reports Ranking[®] 2021: Q1.
- Factor de Impacto: 19,477

Responde a los objetivos:

3. Identificar el patrón de generación de interleucinas en los pacientes con MIS-C.
 - 3.1 Comparar el patrón encontrado en pacientes MIS-C con el patrón generado por pacientes con diagnóstico de EK y controles sanos.
 - 3.2 Estudiar la existencia de inmunocomplejos circulantes en pacientes MIS-C.

Resumen de la tercera publicación:

Objetivos: A parte de definir la clínica y la epidemiología del síndrome (descritos en artículos anteriores), diseñamos un estudio en base a las siguientes hipótesis:

- 1) los perfiles de citoquinas inmunes observados en MIS-C y EK prepandémica pueden diferir y podrían explicar sus diferentes patrones clínicos.
- 2) Los inmunocomplejos (IC) específicos del SARS-CoV-2 pueden explicar la inmunopatología del MIS-C.

Material y Métodos: Se incluyeron 58 pacientes pediátricos: 1) 14 con MIS-C; 2) 10 SARS-CoV-2 positivos sin MIS-C (COVID); 3) 14 EK prepandémicos (EK) y 4) 20 controles sanos (CS). Se cuantificaron 34 citoquinas circulantes en muestras de pretratamiento (54/56) y se evaluó la presencia de IC de SARS-CoV-2 circulante en pacientes con MIS-C.

Resultados: En comparación con CS, los grupos MIS-C y EK mostraron niveles significativamente más altos de la mayoría de las citoquinas. De estos, las citoquinas relacionadas con IFN- γ (IL-18, IFN- γ , IP-10) y las relacionadas con monocitos inflamatorios (MCP-1, MIP1- β , IL-1 α , IL-1RA) fueron los principales desencadenantes de la inflamación. Después del análisis discriminante lineal, los perfiles MIS-C y EK fueron indistinguibles. Sin embargo, un subgrupo de pacientes con MIS-C se diferenció de EK con un marcado aumento de IL-8, IL-18, IFN- γ , GM-CSF y RANTES.

Conclusiones:

Los perfiles de citoquinas inmunes observados en MIS-C y EK fueron más altos y diferentes en comparación con el grupo EK pre-pandemia y los controles sanos. No pudimos detectar la presencia de IC de SARS-CoV-2 circulante en pacientes con MIS-C. Nuestros hallazgos sugieren un papel importante de IFN- γ en la patogénesis de MIS-C, que puede ser relevante para el manejo terapéutico.

Similarities and differences between the immunopathogenesis of COVID-19-related pediatric multisystem inflammatory syndrome and Kawasaki disease

Ana Esteve-Sole,^{1,2,3} Jordi Anton,^{3,4,5} Rosa Maria Pino-Ramirez,⁶ Judith Sanchez-Manubens,^{3,5,7} Victoria Fumadó,^{3,4,8} Claudia Fortuny,^{3,4,8,9,10} María Rios-Barnes,⁸ Joan Sanchez-de-Toledo,^{3,11,12} Mónica Girona-Alarcón,¹³ Juan Manuel Mosquera,^{3,5} Silvia Ricart,^{4,6} Cristian Launes,^{3,4,6,9} Mariona Fernández de Sevilla,^{6,9} Cristina Jou,^{3,14,15} Carmen Muñoz-Almagro,^{3,9,16,17} Eva González-Roca,^{18,19} Andrea Vergara,^{18,20} Jorge Carrillo,²¹ Manel Juan,^{2,4,19} Daniel Cuadras,^{3,22} Antoni Noguera-Julian,^{3,4,8,9,10} Iolanda Jordan,^{3,4,9,13} and Laia Alsina^{1,2,3,4}

¹Allergy and Clinical Immunology Department, Hospital Sant Joan de Déu (HSJD), Barcelona, Spain. ²Clinical Immunology Unit, HSJD–Hospital Clínic de Barcelona (HCB), Barcelona, Spain. ³Institut de Recerca Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain. ⁴Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain. ⁵Pediatric Rheumatology Department and ⁶Pediatrics Department, HSJD, Barcelona, Spain. ⁷Pediatric Rheumatology Department, Hospital Parc Taulí, Sabadell, Spain. ⁸Infectious Diseases Department, HSJD, Barcelona, Spain. ⁹CIBER of Epidemiology and Public Health, Madrid, Spain. ¹⁰Translational Research Network in Paediatric Infectious Diseases (RITIP), Madrid, Spain. ¹¹Cardiology Department, HSJD, Barcelona, Spain. ¹²Department of Critical Care Medicine, University of Pittsburgh, Pittsburgh, Pennsylvania, USA. ¹³Pediatric Intensive Care Unit, and ¹⁴Pathology Department and Biobank, HSJD, Barcelona, Spain. ¹⁵Center for the Biomedical Research on Rare Diseases (CIBERER), ISCIII, Madrid, Spain. ¹⁶Department of Medicine, Universitat Internacional de Catalunya, Barcelona, Spain. ¹⁷Molecular Microbiology Department, HSJD, Barcelona, Spain. ¹⁸Molecular Biology Core, and ¹⁹Department of Immunology, El Centro de Diagnóstico Biomédico (CDB), HCB-IDIBAPS, Barcelona, Spain. ²⁰Microbiology Department, CDB, HCB, Barcelona, Spain. ²¹IrsiCaixa AIDS Research Institute, Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona, Catalonia, Spain. ²²Statistical Department, Fundació Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain.

Multisystem inflammatory syndrome associated with the SARS-CoV-2 pandemic has recently been described in children (MIS-C), partially overlapping with Kawasaki disease (KD). We hypothesized that (a) MIS-C and prepandemic KD cytokine profiles may be unique and justify the clinical differences observed, and (b) SARS-CoV-2-specific immune complexes (ICs) may explain the immunopathology of MIS-C. Seventy-four children were included: 14 with MIS-C, 9 patients positive for SARS-CoV-2 by PCR without MIS-C (COVID), 14 with prepandemic KD, and 37 healthy controls (HCs). Thirty-four circulating cytokines were quantified in pretreatment serum or plasma samples and the presence of circulating SARS-CoV-2 ICs was evaluated in MIS-C patients. Compared with HCs, the MIS-C and KD groups showed most cytokines to be significantly elevated, with IFN- γ -induced response markers (including IFN- γ , IL-18, and IP-10) and inflammatory monocyte activation markers (including MCP-1, IL-1 α , and IL-1RA) being the main triggers of inflammation. In linear discriminant analysis, MIS-C and KD profiles overlapped; however, a subgroup of MIS-C patients (MIS-C^{plus}) differentiated from the remaining MIS-C patients in IFN- γ , IL-18, GM-CSF, RANTES, IP-10, IL-1 α , and SDF-1 and incipient signs of macrophage activation syndrome. Circulating SARS-CoV-2 ICs were not detected in MIS-C patients. Our findings suggest a major role for IFN- γ in the pathogenesis of MIS-C, which may be relevant for therapeutic management.

Introduction

Late in April 2020, a multisystem inflammatory syndrome temporally associated with SARS-CoV-2 was described in children (MIS-C) (1), occurring 4–6 weeks after the infectious peak (2–6). The diagnostic criteria for this entity were developed by health agencies based on the initial cases described (7–9), lacking specific biomarkers (7–10).

MIS-C shares common features with Kawasaki disease (KD) and patients were initially treated following recommendations for KD. However, there are notable differences, with the incidence of MIS-C being higher (2) and patients presenting with (a) older age, (b) increased gastrointestinal and neurological signs, (c) higher incidence of myocarditis and cardiac involvement, and (d) increased ferritin, leukopenia, lymphopenia, and thrombocytopenia (2–5, 11, 12). Godfred-Cato et al. (13) recently identified 3 nonexclusive categories of patients within MIS-C: Class 1, with increased gastrointestinal and neurological manifestations, also named “true” or classic MIS-C (10); Class 2 or “acute COVID,” most of them positive for SARS-CoV-2 by polymerase chain reaction (PCR) and negative by serology; and Class 3 or “KD-like” (10), with a phenotype similar to that of prepandemic KD.

Authorship note: AES and JA contributed equally to this work. IJ and LA are co-senior authors.

Conflict of interest: The authors have declared that no conflict of interest exists.

Copyright: © 2021, American Society for Clinical Investigation.

Submitted: September 28, 2020; **Accepted:** January 20, 2021; **Published:** March 15, 2021.

Reference information: *J Clin Invest.* 2021;131(6):e144554.

<https://doi.org/10.1172/JCI144554>.

Table 1. Description of the study cohort: clinical data and SARS-CoV-2-related analytical data

Demographics	Sex ^a	Female, Male	MIS-C		KD		P	COVID	
			7	7	6	8		5	4
	Age (years)	median, min–max	2.88	0.25–14	2.00	0.5–6	0.38	10	0.08–14
	Ethnicity ^a	North African (no., %)	1	71%	3	21.4%	0.73	0	0.0%
		Latin (no., %)	2	14.3%	2	14.3%		6	60.0%
		White (no., %)	9	64.3%	8	57.1%		4	40.0%
		Asian (no., %)	1	7.1%	1	7.1%		0	0.0%
		Black (no., %)	1	7.1%	0	0.0%		0	0.0%
	Overweight	no., %	1	7.1%	0	0.0%	0.31	2	20.0%
Symptoms	Fever	no., %	14	100.0%	14	100.0%	-	6	60.0%
	Total fever duration (days)	median, min–max	6.00	3–11	5.50	4–15	0.60	2.00	0–7
	Respiratory symptoms	no., %	3	21.4%	2	14.3%	0.62	3	30.0%
	Gastrointestinal symptoms	no., %	12	85.7%	6	42.9%	0.02	7	70.0%
	Neurologic symptoms	no., %	5	35.7%	0	0.0%	0.01	1	10.0%
	Bilateral conjunctivitis	no., %	10	71.4%	12	85.7%	0.36	0	0.0%
	Oral mucosal changes	no., %	10	71.4%	13	92.9%	0.14	0	0.0%
	Peripheral extremity changes	no., %	9	64.3%	6	42.9%	0.26	0	0.0%
	Polymorphous rash	no., %	11	78.6%	9	64.3%	0.40	2	20.0%
	Lymphadenopathy	no., %	9	64.3%	7	50.0%	0.44	1	10.0%
	Diagnosis ^b	Complete KD	7	50%	6	42.9%	0.71		
		Incomplete KD	4	28.6%	6	42.9%			
		Shock	3	21.4%	2	14.3%			
	Aneurysms	no., %	3	21.4%	1	7.1%	0.28		
	Cardiac dysfunction	no., %	2	14.3%	0	0.0%	0.14		
	Vascular hyperpermeability	no., %	7	50.0%	3	21.4%	0.12	0	0.0%
	Shock ^c	no., %	3	21.4%	3	21.4%	1	0	0.0%
	Number of OSI ^d (0 to 8)	median, min–max	3.00	1–6	3.00	1–4	0.21		
Treatment	Highest level of care	Outpatient (no., %)	0	0.0%	0	0.0%	0.36	4	40.0%
		Hospitalization (no., %)	11	78.6%	12	85.7%		5	50.0%
		Hospitalization (high care) (no., %)	0	0.0%	0	0.0%		1	10.0%
		ICU (ionotropics/ventilation) (no., %)	3	21.4%	1	7.1%		0	0.0%
	Sequelae	Aneurysms (no., %)	3	21.4%	1	7.1%	0.28	0	0.0%
	IVI ^e	no., %	12	85.7%	14	100.0%	0.14	0	0.0%
	IVI ^e second dose	no., %	3	21.4%	1	7.1%	0.28	0	0.0%
	Systemic glucocorticoids	no., %	8	57.1%	5	35.7%	0.25	1	10.0%
	IL-6 inhibitor	no., %	0	0.0%	0	0.0%		0	0.0%
	Anticoagulation therapy	no., %	12	85.7%	14	100.0%		1	10.0%
	Day of illness at treatment	median, min–max	5.00	0–9	5.00	1–8		5.00	5.00
	Treatment prior to cytokine evaluation	Antibiotic (no., %)	9	64.3%	4	28.6%		2	20.0%
		IVI ^e (no., %)	2	14.3%	0	0.0%		0	0.0%
	Lapse onset to cytokine evaluation (days) ^f	median, min–max	5.50	2–10	4.50	4–14	0.86	1.50	0–15
COVID-19	COVID contact	no., %	3	21.4%				9	90.0%
	Positive PCR (NF ^g)	Pos (no., %)	4	28.6%				10	100.0%
	Positive PCR (stools)	Pos (no., %)	2	40.0%				0	0.0%
	IgG, anti-SARS-CoV-2	Pos (n ^o , %)	8	61.5%				8	80.0%
	IgA, anti-SARS-CoV-2	Pos (no., %)	6	46.2%				6	60.0%
		Indeterminable (no., %)	1	7.7%				0	0.0%
	IgM, anti-SARS-CoV-2	Pos (no., %)	1	7.7%				6	60.0%

^aClassified by the investigators. ^b2017 AHA criteria. ^cKanegaye Kawasaki shock criteria (45). ^dOrgan systems involvement. ^eIntravenous immunoglobulins.

^fDays between onset of disease and sample extraction. ^gNasopharyngeal. KD, pre-SARS-CoV-2 pandemic Kawasaki disease; MIS-C, multisystem inflammatory syndrome in children; COVID, pediatric patients with mild COVID-19 without MIS-C; IVIG, intravenous immunoglobulin; PCR, polymerase chain reaction; OSI, organ systems involvement; ICU, intensive care unit.

The underlying mechanism of MIS-C remains elusive. Currently, KD is categorized as a vasculitis (14) and it is considered to result from the exposure of a genetically predisposed child to

an unidentified, possibly infectious agent. This interaction may generate an imbalance in the immune system, with increased Th1/Th17-related immunity and a Treg/Th17 imbalance. This

Table 2. Cohort description: laboratory data

		MIS-C			KD			COVID			KD vs. MIS-C	KD vs. COVID	MIS-C vs. COVID
Hb (g/dL)	median, min-max, <i>n</i>	10.85	7.8–12.3	14/14	10.5	9.6	14/14	12.5	6.8–13.5	10/10	1	0.026	0.036
Platelets ($\times 10^3/\text{mm}^3$) of blood	median, min-max, <i>n</i>	232.5	112–509	14/14	444	123–997	14/14	302.5	117–3380	10/10	0.035	0.009	0.625
Low platelets	no./total, %	4/14	28.6%		1/14	71%		1/10	10.0%		0.33		
Lymphocytes/ mm^3	median, min-max, <i>n</i>	1950	400–10,400	14/14	5550	1000–8200	14/14	2350	800–3300	10/10			
Lymphopenia	no./total, %	9/12	75.0%		3/14	21.4%		5/10	50.0%		0.02		
Neutrophils/ mm^3	median, min-max, <i>n</i>	6728.57	300–17,300	14/14	10,528	3286–16,400	13/14	3050	500–7300	10/10	0.054	0.001	0.709
Neutrophilia	no./total, %	6/14	42.9%		11/13	84.6%		2/10	20.0%		0.015		
Monocytes/ mm^3	median, min-max, <i>n</i>	600	100–2700	14/14	600	212–1504	13/14				0.83		
Monocytosis	no./total, %	7/14	50.0%		9/13	69.2%					0.44		
D-dimer (mg/L)	median, min-max, <i>n</i>	4.32	1.12–9.22	7/14				0.915	0.61–1.22	2/10			0.111
ESR (mm/hour)	median, min-max, <i>n</i>	18.5	30,348.0	10/14	34.5	29,252.0	14/14						
Altered ESR (mm/hour)	no./total, %	5/10	50.0%		10/14	71.4%					0.4		
PCT (ng/mL)	median, min-max, <i>n</i>	2.28	0.04–6.74	14/14	0.6	0.08–4.42	14/14	0.02	0.01–0.53	8/10	0.401	0.001	0.001
Altered PCT	no./total, %	10/14	71.4%		9/14	64.3%		1/8	12.5%		1		
CRP (mg/L)	median, min-max, <i>n</i>	156.25	33.2–364.0	14/14	116.9	36.9–407	14/14	1.4	0.2–63.6	9/10	0.874	0	0
Altered CRP	no./total, %	14/14	100.0%		14/14	100.0%		3/9	33.3%				
Ferritin ($\mu\text{g/L}$)	median, min-max, <i>n</i>	375.5	66–2000	14/14	193.6	116–849.4	13/14	98.8	39.5–3545	5/10	0.65	0.566	0.823
Altered ferritin	no./total, %	10/14	71.4%		12/13	92.3%		2/5	40.0%		0.33		
NTPro-BNP (ng/L)	median, min-max, <i>n</i>	3102	131–22,668	14/14	1445	80–6714	13/14				0.458		
Altered NTPro-BNP	no./total, %	14/14	100.0%		12/13	92.3%					0.48		
Na (mmol/L)	median, min-max, <i>n</i>	136.5	129–144	14/14	136	131–141.5	13/14	138	124–140	7/10	0.402	0.135	0.585
Altered Na	no./total, %	5/14	35.7%		6/13	46.2%		1/10	10.0%		0.7		
ALT (U/L)	median, min-max, <i>n</i>	26.5	7–106	14/14	18	8–196	13/14	14.5	7–126	8/10	0.867	0.414	0.267
Altered ALT	no./total, %	6/14	42.9%		5/13	38.5%		2/2	25.0%		1		
LDH (U/L)	median, min-max, <i>n</i>	673	402–891	14/14	557	289–1144	14/14	564	308–1037	7/10	0.482	0.636	0.128
Altered LDH	no./total, %	5/14	35.7%		4/14	28.6%		3/7	42.9%		1		
Albumin (g/L)	median, min-max, <i>n</i>	35	20–46	12/14	35.5	23–42	14/14				0.595		
Altered albumin	no./total, %	8/12	66.7%		8/14	57.1%					0.7		

KD, pre-SARS-CoV-2 pandemic Kawasaki disease; MIS-C, multisystem inflammatory syndrome in children; COVID, pediatric patients with mild COVID-19 without MIS-C; ND, not determined; y, years; Hb, hemoglobin; ESR, erythrocyte sedimentation rate; PCT, procalcitonin; CRP, C-reactive protein; NTPro-BNP, N-terminal pro-brain natriuretic peptide; ALT, alanine transaminase; LDH, lactate dehydrogenase; Na, sodium.

would lead to increased production of inflammatory cytokines and chemokines such as TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, MCP-1, and GM-CSF, causing macrophage and neutrophil hyperactivation (15). SARS-CoV-2 is a single-stranded RNA virus (16) and infections caused by RNA viruses have been linked to KD (11). Type III hypersensitivity reactions may explain part of the pathogenesis of KD by immune complexes (ICs), as causal association has been reported (11, 17, 18). Of note, deposited ICs were detected in the endothelium of an adult patient with SARS-CoV-2-related vasculitis 18 days after an infection confirmed by PCR (19).

We hypothesized that (a) cytokine profiles observed in MIS-C and prepandemic KD patients may be unique, and (b) SARS-CoV-2-specific ICs may explain the immunopathology of MIS-C.

Results

Cohort description. Seventy-four children were studied: 14 with MIS-C (median age 2.9 years, range 0.3–14); 14 with prepandemic KD (median age 2 years, range 0.5–6); 9 COVID patients positive for SARS-CoV-2 by nasopharyngeal reverse transcriptase PCR (RT-PCR) (mean age 10 years, range 0.1–14); and 37

healthy controls (HCs, median age 5 years, range 1–11; among the latter, 16 of 37 HC patients had both serum and plasma samples collected in parallel, adding up to a total of 53 HC samples). The clinical characteristics of 12 out of the 14 MIS-C patients of this cohort have previously been described by Pino et al. (6), showing increased gastrointestinal and neurological symptoms, increased lymphopenia and thrombopenia, and decreased neutrophilia, with statistically significant differences compared with KD patients (Tables 1 and 2 and Supplemental Tables 1 and 2; supplemental material available online with this article; <https://doi.org/10.1172/JCI144554DS1>). Eight of the 14 MIS-C patients had SARS-CoV-2-specific IgG, 6 of whom were also positive for IgA and none for IgM (Figure 1). MIS-C patients were treated according to recommendations for KD in the absence of specific recommendations at that time. The included COVID patients had a mild disease course; 7 out of 9 were positive for IgG.

Cytokine profiling. Cytokine profiling was performed in serum or plasma samples prior to immunomodulatory treatment (except in 2 patients who received immunoglobulins 2 days before blood extraction) and at a median time from disease onset of 5.50, 4.50,

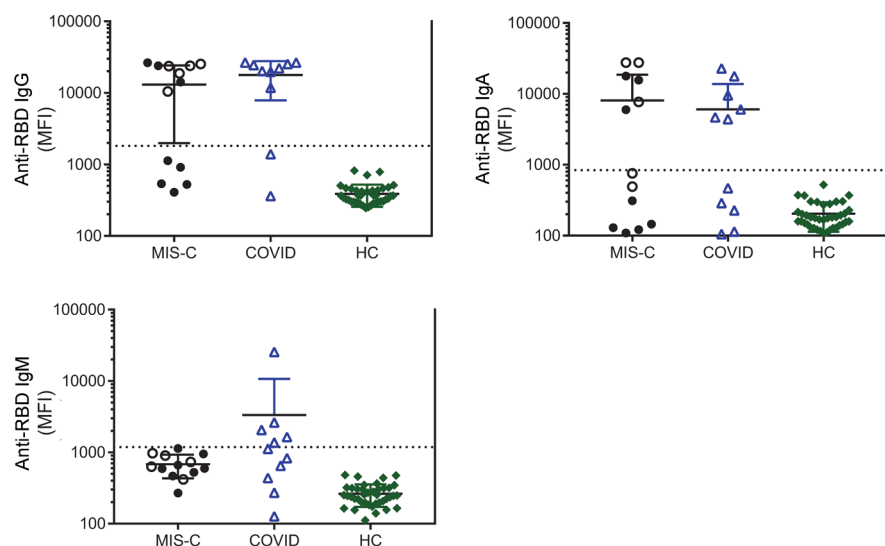


Figure 1. SARS-CoV-2-specific immunoglobulin detection. Determination of IgG, IgA, and IgM specific for the receptor-binding domain (RBD) of the SARS-CoV-2 spike protein. Open symbols represent patients with positive PCR in nasal swab or stools. Dotted lines represent threshold for positivity. MFI, mean fluorescence intensity; MIS-C, multisystem inflammatory syndrome in children ($n = 13$); COVID, pediatric patients with mild COVID-19 disease without MIS-C ($n = 9$); HC, healthy controls ($n = 37$ [53 samples]).

and 1.50 days for MIS-C, KD, and COVID patients, respectively. Plasma and serum cytokine levels were normalized to plasma and serum HC samples and transformed by $\log_2$ (fold change) ($\log_2$ FC), to avoid sample-source-dependent differences (Supplementary Methods and Supplemental Figure 1) and were compared across groups (Supplemental Table 3 and Supplemental Figure 2).

In order to compare the 34-cytokine profile across groups, we performed an unsupervised multiparametric analysis through principal component analysis (PCA) (Figure 2A). In PCA, principal components (PCs) explain the maximum variance among all individuals. After PCA plotting of PC1 and PC2, HCs and mild-COVID patients were grouped in the same area, being still distinguishable, but apart from the MIS-C and KD groups, which partially overlapped. We identified 13 cytokines with a higher impact on the observed variance (Figure 2B). Comparison of cytokine levels between KD/MIS-C and HC showed statistically significant differences in all cytokines except IL-2, TNF- α , MIP-1 α , MIP-1 β , and IL-22 (Supplemental Table 3 and Supplemental Figure 2).

Although mild-COVID patients were grouped in the same area as HCs, they were not superimposed. Circulating cytokine levels of mild-COVID patients and HCs were statistically significantly different in 17 of 34 cytokines measured, including IFN- γ , IP-10, IL-1 α , GM-CSF, GRO- α , and SDF-1 of the selected PCA cytokines (Figure 2B). However, their increase in mild-COVID patients was lower than that observed in MIS-C or KD patients.

We performed a supervised analysis through linear discriminant analysis (LDA) based on 13 selected PC1 and PC2 cytokines, to explore if they were sufficient to create a model that could distinguish between the different groups, in particular MIS-C and KD. LDA generated 3 canonical variants (Can1–Can3), explaining the maximum variability between groups; Can1 and Can2 allowed visual differentiation of HC and COVID from the other groups, but not KD from MIS-C (Figure 2C). Testing the model using the leave-one-out cross-validation was useful for distinguishing between HC, COVID, and MIS-C+KD, but not between KD and MIS-C (Figure 3).

Visualization of Can2 versus Can3 showed that 5 patients with MIS-C (MIS-C^{plus}) presented a unique pattern (Figure 2D). Of the 13 cytokines selected to build the LDA model, IFN- γ , IL-18,

GM-CSF, RANTES, IP-10, IL-1 α , and SDF-1 significantly differentiated MIS-C^{plus} patients from the remaining MIS-C patients (Supplemental Table 4 and Figure 2E). The absolute values of these cytokines are shown in Figure 4. Specifically, the median circulating IFN- γ levels in MIS-C^{plus} patients were 114.9 pg/mL (range 44.4–259.5 pg/mL; Figure 4), which was higher than in the remaining MIS-C patients (median of 10 pg/mL), KD patients (median of 19.9 pg/mL), and mild-COVID patients (7.5 pg/mL) (Figure 4). Although only 33% of all MIS-C patients were classified as MIS-C after leave-one-out cross-validation, 80% of MIS-C^{plus} patients were classified as MIS-C (Figure 3).

MIS-C^{plus} patients tended to have increased organ system involvement compared with MIS-C (median 5 [range 2–6] vs. 3 [range 1–6], respectively, $P = 0.08$; Supplemental Table 5). MIS-C^{plus} patients presented with increased neurological symptoms compared with the remaining MIS-C patients (80% vs. 11%, $P = 0.023$; Supplemental Table 5). SARS-CoV-2 RT-PCR testing in stool was performed in 80% of MIS-C^{plus} patients compared with only 2 of the 9 remaining MIS-C patients, suggesting an increased severity of gastrointestinal symptoms. In addition, SARS-CoV-2-specific IgA was positive or indeterminate in 80% of MIS-C^{plus} patients compared with 37.5% of the remaining MIS-C patients ($P = 0.21$). Although not reaching statistical significance, MIS-C^{plus} patients displayed lower platelet levels (median of 170,000 vs. 373,000 platelets/mm³, $P = 0.08$) and a higher frequency of altered procalcitonin (100% vs. 55.6%, $P = 0.08$) and ferritin values (100% vs. 55.6%, $P = 0.08$) (Supplemental Table 6).

Detection of SARS-CoV-2 ICs. SARS-CoV-2 ICs were determined by quantifying SARS-CoV-2 RNA before and after immunoprecipitation of IgA and IgG, chosen because SARS-CoV-2-specific IgG and IgA were previously reported in MIS-C patients (Figure 1 and ref. 20) and because of their reported role in KD IC-mediated pathogenesis (17). We performed SARS-CoV-2 real-time RT-PCR in (a) pretreated serum, (b) IgG-immunoprecipitated serum, (c) IgA-immunoprecipitated serum, and (d) IgG- and IgA-free serum in MIS-C patients and in 1 positive and 1 negative control. We did not detect circulating SARS-CoV-2 RNA nor SARS-CoV-2 ICs in any MIS-C patients (Supplemental Figure 3).

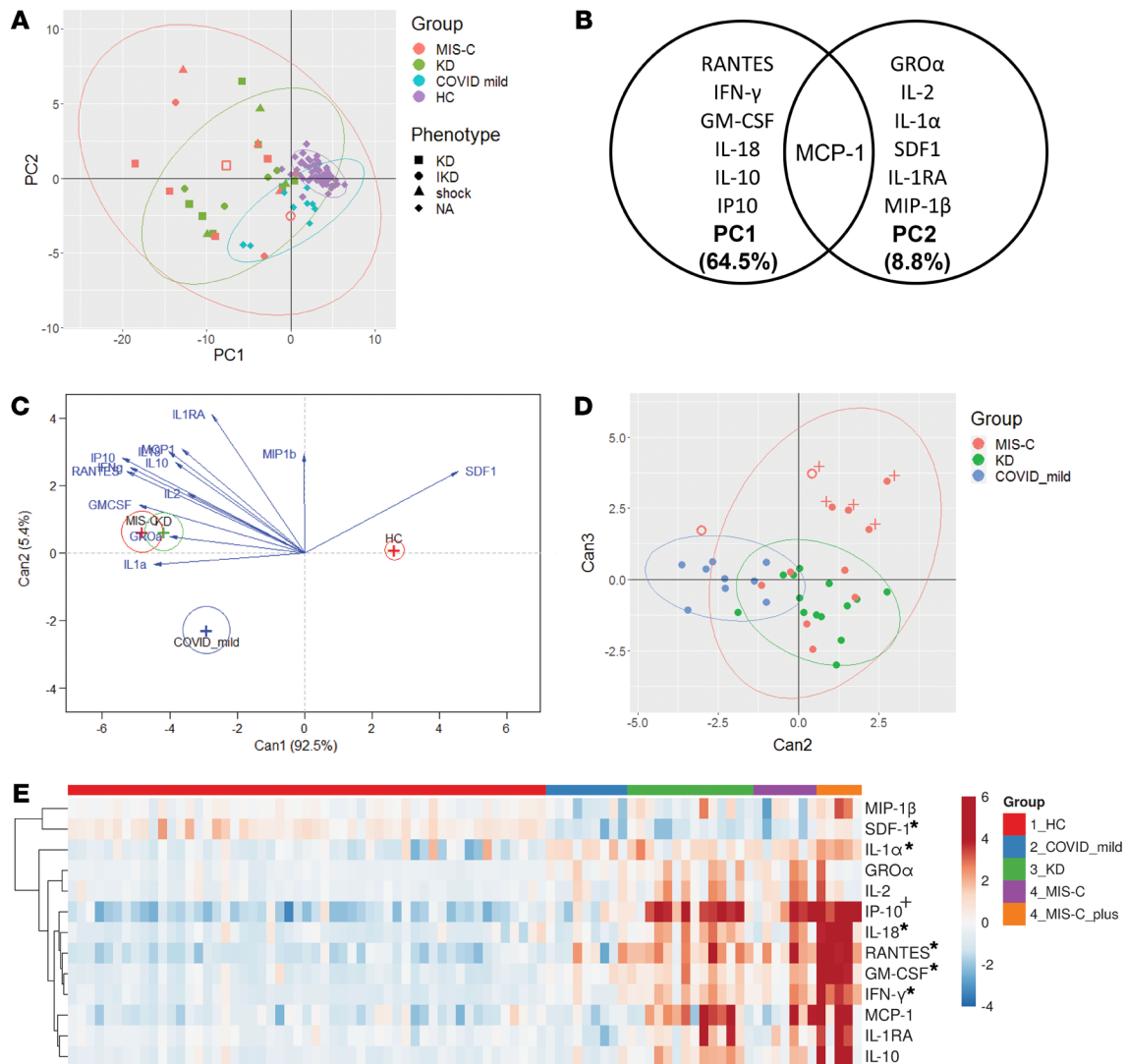


Figure 2. Cytokine profile of the different groups. Levels of 34 circulating cytokines were evaluated in serum or plasma. **(A)** Principal component analysis: every data point represents one individual. **(B)** Total variance explained by principal component 1 (PC1) and PC2 and variables with higher scores. **(C)** Representation of canonical variants (Can1 and Can2) of the linear discriminant analysis (LDA) built with the cytokines represented in B. **(D)** Representation of Can2 and Can3 of the LDA (HCs have been removed from the plot, not from the analysis). A "+" indicates subgroup of MIS-C patients differentiated from other MIS-C and KD patients (MIS-C^{plus}). Open symbols represent patients who previously received immunoglobulin treatment. **(E)** Heatmap representing the selected cytokines (represented in panel B). Every column represents a patient. An asterisk (*) identifies the cytokines with statically significant differences between KD+MIS-C and MIS-C^{plus}, and a "+" identifies cytokines with statically significant differences between MIS-C and MIS-C^{plus} and not with KD. Color gradient represents the z score. KD, pre-SARS-CoV-2 pandemic Kawasaki disease ($n = 14$); MIS-C, multisystem inflammatory syndrome in children ($n = 13$); COVID, pediatric patients with mild COVID-19 disease without MIS-C ($n = 9$); HC, healthy controls ($n = 37$ [53 samples]).

Discussion

SARS-CoV-2 seemed to have spared children until the appearance of MIS-C in pediatric patients, which at first was classified as a "Kawasaki-like" manifestation of the infection (1). In order to better understand the similarities and differences between these 2 entities, we evaluated circulating cytokine levels in pediatric patients with MIS-C, prepandemic KD, and mild COVID, and the presence of SARS-CoV-2 ICs in MIS-C patients. Our findings suggest that (a) IFN- γ and inflammatory monocytes are the main drivers of inflammation in MIS-C patients and (b) MIS-C patients can be subdivided into 2 groups: 1 similar to KD in terms of clinical and cytokine profiles (described as Class 3, ref. 13; or KD-like, ref. 10), and 1 described as Class 1 (13) ("true"

or classic MIS-C; ref. 10), with more severe inflammation (especially IFN- γ -related) and increased neurological and gastrointestinal manifestations. Circulating SARS-CoV-2 ICs could not be identified in MIS-C patients.

Clinical and routine laboratory parameters of MIS-C patients as well as SARS-CoV-2-specific serology results were in accordance with other published reports, in which SARS-CoV-2-specific IgG antibodies have been observed before day 10 of symptom onset (2–4, 20–22). Circulating cytokine determination included 34 cytokines and chemokines, covering most of the cytokines described as being elevated in MIS-C patients (5, 21, 23–25). After PCA, we selected 13 cytokines that explained most of the observed variance across individuals. Selected cytokines in PC1

	MIS-C	KD	COVID	HC
MIS-C (MIS-C ^{plus})	33.33% (80%)	50.00% (20%)	16.67% (0%)	0.00% (0%)
KD	42.86%	42.86%	14.29%	0.00%
COVID	11.11%	22.22%	66.67%	0.00%
HC	0.00%	0.00%	0.00%	100.00%

Figure 3. Leave-one-out cross-validation of linear discriminant analysis model. Rows represent the preclassified groups and columns the predicted categories after leave-one-out cross-validation. KD, pre-SARS-CoV-2 pandemic Kawasaki disease ($n = 14$); MIS-C, multisystem inflammatory syndrome in children ($n = 13$); COVID, pediatric patients with mild COVID-19 disease without MIS-C ($n = 9$); HC, healthy controls ($n = 31$ [53 samples]).

(64.5% of the variance) were enriched in IFN- γ -related cytokines, while those in PC2 (8.8% of the variance) were enriched in IL-1 and inflammatory monocyte pathways (Figure 2B), suggesting a principal role for these cytokines in the inflammation observed in KD and MIS-C. Activation of inflammatory monocytes (CD16⁺) has already been described in MIS-C patients (21, 23) as well as in severe-SARS-CoV-2 adult patients (18). In addition, a moderate increase in circulating cytokine levels observed in mild-COVID patients was in accordance with previous reports (21, 23).

Previous reports have also evaluated circulating-cytokine profiles in MIS-C patients (5, 21, 23, 25, 26), 2 of which included KD patients (5, 25). Although a similar approach was used, the cohorts are not fully comparable. There were differences in the definition of HCs and COVID patients, and the time from disease onset to cytokine testing was only specified in 1 study (23); thus, it is unknown whether testing was prior to immunomodulatory treatment. Despite these differences, reported evidence shows that MIS-C patients display an increase in inflammatory cytokines including IFN- γ (24), IL-10 (23–25), IL-6 (5, 24, 25), IL-8 (23, 24), CXCL10 (21, 23, 27), MIP-1 α , MIP-1 β (21), TNF- α (23, 24), and IL-17 (22, 28), in MIS-C patients compared with HCs and other pediatric COVID patients. These results are in accordance with our observations (Supplemental Figure 2 and Supplemental Table 3). In addition, CXCL9 (25) and IL-2RA (23, 25) were also found to be increased in MIS-C patients.

Consiglio et al. (5) compared MIS-C patients from Italy and Sweden with prepandemic Italian KD patients. They performed PCA of 180 proteins in plasma, finding that a subgroup of MIS-C patients overlapped with KD patients and another clearly differentiated. They found an especially large increase in IL-17 in KD patients in comparison with HC and COVID patients, which was not observed in MIS-C patients. We and others (21, 23) have observed a marked increase in circulating IL-17 levels in KD patients but also in MIS-C patients, though to a lesser extent in the latter (1.15 vs. 1.50 median log₂FC in MIS-C and KD patients, respectively, compared with HC; 6.84 pg/mL vs. 13.63 pg/mL vs. 1.40 pg/mL median quantitative levels in MIS-C, KD, and HC, respectively; Supplemental Table 3 and Supplemental Figure 4). These differences may be ascribed to a different behavior of the Swedish cohort, taking into account the medRxiv version of the paper (27).

The marked increase in circulating levels of IFN- γ , IL-18, and IP-10 in MIS-C^{plus} patients in comparison with other MIS-C and KD patients led to suspicion of a possible relationship with macrophage activation syndrome (MAS) (29–31). Indeed, the presence of MAS was plausible in 1 patient (MIS-C^{plus}, ID 11; Supple-

mental Table 2). These cytokines are also known to be increased in severe-COVID patients (18, 32). Elevation of circulating IFN- γ is a hallmark of hemophagocytic syndromes (hemophagocytic lymphohistiocytosis, HLH) including MAS, and its determination in serum in different studies has shown varying results. IFN- γ is normally undetectable in HCs (28). Increased levels of IFN- γ have been reported in viral infections (mean of 18.9 pg/mL, range 7.7–33.4 pg/mL; ref. 33) and particularly high serum levels are detected in patients with suspected primary HLH (fulfilling HLH-2004 diagnostic criteria [ref. 34], below 10 years of age, with or without confirmed genetic diagnosis) (mean of 1807 pg/mL (range 147.6 to >5000 pg/mL; ref. 33) and 905 pg/mL (95% CI 530.7–1280.6 pg/mL; ref. 35). Patients with MAS associated with systemic juvenile idiopathic arthritis showed mean serum IFN- γ levels of 15.4 pg/mL (5.1–52.6 pg/mL IQR), although using a different quantification technique in comparison with the other 2 studies (36). Thus, MIS-C^{plus} median circulating IFN- γ levels were higher than in viral infections and MAS, but lower than in suspected primary HLH, therefore suggesting that circulating IFN- γ levels in MIS-C^{plus} cannot only be ascribed to a viral infection but rather may represent a mechanism of disease.

Negative detection of ICs does not rule out their possible role in the immunopathogenesis of MIS-C and this might be explained by 2 hypotheses: (a) the ICs may already be deposited in the endothelium and thus are not detectable in serum/plasma, or (b) the pathogenesis may be mediated by direct infection of the endothelium. ICs have been described in vascular tissue of a SARS-CoV-2 patient with vasculitis (19) and SARS-CoV-2 viral particles have been observed inside the endothelium in pediatric patients with SARS-CoV-2-related chilblains (37). The absence of vascular tissue biopsies limits further exploration of these hypotheses.

Our study has both strengths and limitations. It is of note that most samples were collected within the first week after the beginning of the symptoms and prior to any immunomodulatory treatment except in only 2 of 74 children, who were still clinically active and presented with an inflammatory profile. In addition, the cytokine profile was normalized to plasma and serum of age-matched pediatric HCs, enabling a more robust comparison between different groups and interpretation of results. On the other hand, the cohorts were modest in size, but large enough to observe differences. Also, we had limited access to different types of samples, including peripheral blood mononuclear cells and tissue biopsies, that could have been useful for evaluation of T cell immunity and monocyte phenotyping.

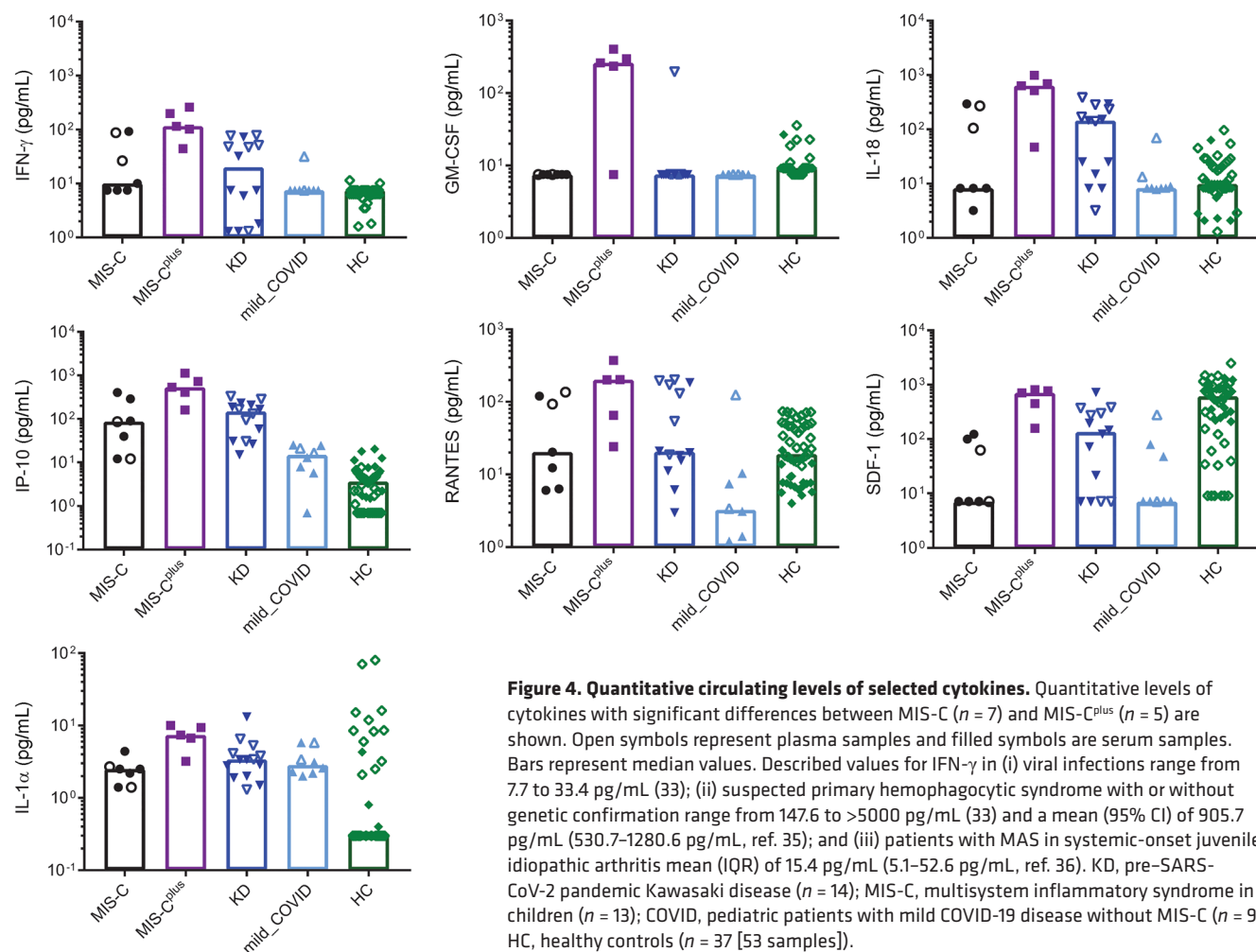


Figure 4. Quantitative circulating levels of selected cytokines. Quantitative levels of cytokines with significant differences between MIS-C ($n = 7$) and MIS-C^{plus} ($n = 5$) are shown. Open symbols represent plasma samples and filled symbols are serum samples. Bars represent median values. Described values for IFN- γ in (i) viral infections range from 7.7 to 33.4 pg/mL (33); (ii) suspected primary hemophagocytic syndrome with or without genetic confirmation range from 147.6 to >5000 pg/mL (33) and a mean (95% CI) of 905.7 pg/mL (530.7–1280.6 pg/mL, ref. 35); and (iii) patients with MAS in systemic-onset juvenile idiopathic arthritis mean (IQR) of 15.4 pg/mL (5.1–52.6 pg/mL, ref. 36). KD, pre-SARS-CoV-2 pandemic Kawasaki disease ($n = 14$); MIS-C, multisystem inflammatory syndrome in children ($n = 13$); COVID, pediatric patients with mild COVID-19 disease without MIS-C ($n = 9$); HC, healthy controls ($n = 37$ [53 samples]).

In summary, our results replicate the routine-clinical laboratory differences observed between KD and MIS-C (2, 5, 25). In our cohort, IFN- γ -related cytokines and cytokines related to IL-1 and inflammatory monocytes were the main contributors to acute inflammation both in MIS-C and KD patients, which mostly overlapped. A subgroup of MIS-C patients (MIS-C^{plus}) showed a more pronounced increase in IFN- γ -related cytokines and a trend toward a more severe multisystemic disorder, resembling the Class 1 (13) (“true” or classic MIS-C; ref. 10) (MIS-C^{plus} patients) versus Class 3 or “KD-like” (ref. 10; remaining MIS-C patients) classification of Godfred-Cato et al. (13). We speculate that the differential gastrointestinal involvement of SARS-CoV-2 infection may have contributed to the differential cytokine profile observed in MIS-C^{plus} compared with KD patients. Our findings may be useful for the development of targeted treatments to optimize patient management and, ultimately, might reduce the estimated mortality of 2% in patients with MIS-C (4).

Methods

From April 23 (4 weeks after the exponential increase of COVID-19 cases in our area and schools closed) to June 5, 2020, 14 patients with MIS-C (according to WHO, ref. 7, or Royal College criteria, refs. 8, 9) pediatric patients positive for SARS-CoV-2 by PCR without MIS-C

(COVID) and 37 pediatric HCs negative for SARS-CoV-2 by PCR and serology were recruited. Fourteen patients with prepandemic KD, according to AHA criteria (38), were also recruited between 2016 and 2019. Patient definition and inclusion criteria are defined in Supplemental Methods.

This was a cross-sectional study. Patients’ blood samples were drawn between day 1 and day 10 of disease evolution (with the exception of 1 KD patient in whom disease onset had been 14 days but who still presented with increased C-reactive protein levels) for routine laboratory analysis, quantification of 34 different circulating cytokines and evaluation of the presence of circulating SARS-CoV-2 ICs (only in patients with MIS-C). Sampling was performed before the administration of immunomodulatory treatment (intravenous immunoglobulin [IVIG], steroids, tocilizumab, anakinra) in all but 2 patients who received IVIG 2 days before the extraction. None of the patients had preexisting conditions, except for 1 COVID patient in remission of an acute lymphocytic leukemia after stem cell transplantation in 2017.

SARS-CoV-2 infection determination

Real-time RT-PCR for nasopharyngeal and stool samples. Viral RNA extraction was performed with NucliSENS easyMAG (BioMerieux Laboratories) or MagMAX Viral/Pathogen Nucleic Acid Isolation Kit (Thermo Fisher Scientific) following the manufacturers’ instruc-

tions. RT-PCR was performed with the COVID-19 Plus RealAmp Kit (Genefinder Laboratories) for detection of the RdRp, E, and N viral genes and the human RNase P gene as internal control.

SARS-CoV-2 serology

IgG, IgA, and IgM antibodies specific for SARS-CoV-2 were determined using a Luminex system against the receptor-binding domain of the spike glycoprotein of SARS-CoV-2, as reported previously (39). Briefly, 10 μ L of plasma was incubated with antigen-coupled beads for 2 hours at room temperature with agitation. Plates were then washed 3 times and incubated with biotinylated secondary antibody (IgM, IgA, or IgG; Sigma-Aldrich) for 45 minutes at room temperature with agitation. Plates were washed 3 times and streptavidin-R-phycoerythrin (Sigma-Aldrich) was added for 30 minutes at room temperature with agitation. Plates were washed 3 times and beads were resuspended in phosphate-buffered saline (PBS) (Roche Diagnostics). Plates were read using a Luminex xMAP 100 analyzer.

Cytokine quantification

Cytokine determination was assessed with the Luminex System (Procartaplex, Thermo Fisher Scientific) performed in serum or plasma of patients the following the manufacturer's instructions. The cytokines detected included eotaxin/CCL11, GM-CSF, GRO- α /CXCL1, IFN- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-1 α , IL-1RA, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8/CXCL8, IL-9, IL-10, IL-12 p70, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-18, IL-21, IL-22, IL-23, IL-27, IL-31, IP-10/CXCL10, MCP-1/CCL2, MIP-1 α /CCL3, MIP-1 β /CCL4, RANTES/CCL5, SDF-1/CXCL12, TNF- α , and TNF- β /LTA. Plates were read using a Luminex xMAP 100 analyzer.

SARS-CoV-2 IC evaluation

Specific viral ICs against SARS-CoV-2 were detected by adapting a previous protocol used to detect hepatitis C virus ICs (40, 41). This consisted of the immunoprecipitation of IgG or IgA followed by determination of viral load with quantitative PCR. Specifically, for each sample, 25 μ L of 10 mg/mL streptavidin magnetic beads (Thermo Fisher Scientific) was incubated with 5 μ g of IgG-biotin (Sigma-Aldrich) or IgA-biotin (Sigma-Aldrich) for each sample for 30 minutes at room temperature with orbital agitation. After 2 washes with PBS containing 0.05% bovine serum albumin (BSA) (Sigma-Aldrich), the magnetic beads were resuspended to the original volume with PBS-BSA. Twenty-five microliters of magnetic beads coupled with IgG were incubated with 100 μ L of patient serum for 30 minutes at room temperature with orbital agitation. Magnetic separation between the beads and the supernatant was performed. The process was repeated with resulting streptavidin- and IgA-coupled magnetic beads. SARS-CoV-2 virus was measured in pretreated serum, the IgG-immunoprecipitated fraction, the IgA-immunoprecipitated fraction, and supernatant fraction by quantitative PCR.

For the detection of nucleic acid from SARS-CoV-2 in serum samples, RNA was isolated with the MagMAX Viral/Pathogen Nucleic Acid Isolation Kit (Thermo Fisher Scientific), following the manufacturer's instructions. Multiplex real-time RT-PCR (TaqPath COVID-19 CE-IVD RT-PCR Kit, Thermo Fisher Scientific) was performed in an Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific) to detect the genes encoding SARS-CoV-2 ORF1ab, N protein, and S protein. An internal control (MS2 phage control) was included before RNA extraction. The assay included a positive control,

consisting of a sample with positive SARS-CoV-2 and positive SARS-CoV-2-specific antibodies and a negative control, consisting on a sample negative for SARS-CoV-2 and SARS-CoV-2-specific antibodies.

Routine hematological and biochemical analysis

A broad battery of routine laboratory parameters including hemogram, erythrocyte sedimentation rate (ESR, mm/hour), D-dimer, procalcitonin (PCT), C-reactive protein (CRP), ferritin, N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NTPro-BNP), sodium, lactate dehydrogenase (LDH), and albumin were studied within the routine hospital care.

Statistics

For the analysis of clinical data, the Mann-Whitney test was performed to compare numerical variables between 2 groups and the χ^2 test was used to compare categorical variables between 2 groups.

For the analysis of cytokine levels, we used relative changes in the fluorescence intensities, as recommended previously (42). Because we had both plasma and serum samples from patients (Supplemental Table 7) and the matrix from plasma and serum may affect the results (42), data from serum samples were normalized to the mean of serum samples from HCs, and data from plasma samples were normalized to the mean of plasma samples from HCs to minimize this effect. After normalization to HCs, log₂FC of all the samples was compared to the mean of the HC group (ref. 22 and Supplemental Figure 1).

For PCA we used single value decomposition without data scaling because data were already normalized. PCA and heatmap analysis were performed using the online tool ClustVis (43). LDA was performed on the normalized data using the R package candisc (discriminant and canonical correlation analysis, R package version 0.8; ref. 44).

The Kruskal-Wallis test was performed for all the cytokines, using Bonferroni's correction for comparisons of all the samples. Pair-wise comparisons using the Mann-Whitney test were only performed when the Kruskal-Wallis test was significant after Bonferroni's correction. Mann-Whitney test results were corrected for multiple comparisons (4 groups, 6 comparisons) with Bonferroni's correction. Statistical test results were considered significant when *P* was less than 0.05. To compare the circulating cytokine levels of MIS-C^{plus} patients with the remaining MIS-C and KD patients, Bonferroni's correction was not performed due to sample size limitation as previously reported (24). Taking into account the sample size, changes reported as statistically significant should be interpreted as indicative of the direction of change in biological signals.

The statistical analyses and graphical representation of the data were done with SPSS 22 (IBM), Prism 8 (GraphPad Software), the online tool ClustVis (43), and R 3.6 (Foundation for Statistical Computing).

Study approval

This study was carried out in accordance with the recommendations of the Ley General de Sanidad (April 25, 1986) Art. 10. The protocol was approved by the Ethics Committee of Hospital Sant Joan de Déu (PIC-58-60). Parents and children over the age of 12 years signed informed consent or assent, in compliance with current legislation.

Author contributions

LA, IJ, AES, JA, MJ, VF, and CF conceptualized and designed the research. AES performed immunologic studies and prepared the figures. AV, EGR, JC, and MJ performed SARS-CoV-2 detection.

LA, AES, RMPR, and IJ analyzed and interpreted data. RMPR, JSM, VF, CF, MRB, JSDT, MGA, JMM, SR, CL, MFDS, CJ, CMA, and IJ provided patient material and clinical data and participated in discussion of the results. AES, JA, RMPR, SR, ANJ, DC, IJ, and LA discussed the integration of the data. AES and LA wrote the manuscript. AES and JA share co-first authorship because AES was responsible for the immunologic studies, while JA was in charge of patient recruitment and clinical evaluation; AES is first coauthor because of her role in writing the manuscript. All authors have read the manuscript, contributed to manuscript revision, and approved the submitted version.

Acknowledgments

The authors especially thank the participants of the study and all the people involved in the care of the patients. We are indebted to the “Biobanc de l’Hospital Infantil Sant Joan de Déu per a la Investigació” integrated in the Spanish Biobank Network of ISCIII for the sample and data procurement. This study was supported by projects PI15/01094, PFIS0200 (AC16/00025),

PI18/00223, and FI19/00208 (to LA), integrated in the Plan Nacional de I+D+I and cofinanced by the ISCIII – Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación Sanitaria –FEDER;PERIS, Departament de Salut, Generalitat de Catalunya (SLT006/17/00199 to LA); 2017 Leonardo Grant for Researchers and Cultural Creators, BBVA Foundation (to LA); 2017 Beca de Investigación de la SEICAP (to LA); a WINDBIOME grant from the Daniel Bravo Foundation; and an 018 SERPE grant from Sociedad Española de Reumatología Pediátrica (SERPE). This work was also partially funded by Stavros Niarchos Foundation (SNF), Banco Santander, and other private donors of “Kids Corona platform” from Hospital Sant Joan de Déu and by CELLNEX TELECOM (5234-20/CPO42837).

Address correspondence to: Laia Alsina or to Ana Esteve-Sole, Hospital Sant Joan de Déu, Avinguda Sant Joan de Déu, 2, Esplugues del Llobregat, Barcelona 08950, Spain. Phone: 34.932.80.4000, ext. 71712; Email: lalsina@sjdhospitalbarcelona.org (LA); aesteves@fsjd.org (AES).

- Riphagen S, et al. Hyperinflammatory shock in children during COVID-19 pandemic. *Lancet*. 2020;395(10237):1607–1608.
- Verdoni L, et al. An outbreak of severe Kawasaki-like disease at the Italian epicentre of the SARS-CoV-2 epidemic: an observational cohort study. *Lancet*. 2020;6736(20):1–1778.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Paediatric Inflammatory Multisystem Syndrome and SARS-CoV-2 Infection in Children. Accessed February 3, 2021. <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/covid-19-risk-assessment-paediatric-inflammatory-multisystem-syndrome-15-May-2020.pdf>.
- Feldstein LR, et al. Multisystem inflammatory syndrome in US children and adolescents. *N Engl J Med*. 2020;383(4):334–346.
- Consiglio CR, et al. The immunology of multisystem inflammatory syndrome in children with COVID-19. *Cell*. 2020;183(4):968–981.
- Pino R, et al. Correspondence on: ‘Paediatric multisystem inflammatory syndrome temporally associated with SARS-CoV-2 mimicking Kawasaki disease (Kawa-COVID-19): a multicentre cohort’ by Pouletty, et al. [published online August 05, 2020]. *Ann Rheum Dis*. <http://dx.doi.org/10.1136/annrheumdis-2020-218538>.
- World Health Organization. Multisystem inflammatory syndrome in children and adolescents temporally related to COVID-19. Accessed February 3, 2020. <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/multisystem-inflammatory-syndrome-in-children-and-adolescents-with-covid-19>.
- Royal College of Paediatrics and Child Health. Guidance: Paediatric Multisystem Inflammatory Syndrome Temporally Associated With COVID-19. <https://www.rcpch.ac.uk/sites/default/files/2020-05/COVID-19-Paediatric-multisystem-%20inflammatory%20syndrome-20200501.pdf>. Updated September, 2020. Accessed February 3, 2020.
- Morris SB, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C) associated with Coronavirus Disease 2019. Clinical Outreach and Communication Activity webinar. May 21, 2020. Accessed February 3, 2021. https://emergency.cdc.gov/coca/calls/2020/callinfo_051920.asp.
- Rowley AH, et al. Immune pathogenesis of COVID-19-related multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C). *J Clin Invest*. 2020;130(11):5619–5621.
- Burns JC, Glodé MP. Kawasaki syndrome. *Lancet*. 2004;364(9433):533–544.
- Cheung EW, et al. Multisystem inflammatory syndrome related to COVID-19 in previously healthy children and adolescents in New York City. *JAMA*. 2020;324(3):294–296.
- Godfred-Cato S, et al. COVID-19-associated multisystem inflammatory syndrome in children — United States, March–July 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2020;69(32):1074–1080.
- Ozen S. EULAR/PRES endorsed consensus criteria for the classification of childhood vasculitides. *Ann Rheum Dis*. 2005;65(7):936–941.
- Takahashi K, et al. Update on etio and immunopathogenesis of Kawasaki disease. *Curr Opin Rheumatol*. 2014;26(1):31–36.
- Perez-Toledo M, et al. Serology confirms SARS-CoV-2 infection in PCR-negative children presenting with Paediatric Inflammatory Multi-System Syndrome [preprint]. <https://doi.org/10.1101/2020.06.05.20123117>. Posted on medRxiv June 7, 2020.
- Menikou S, et al. Kawasaki disease: the role of immune complexes revisited. *Front Immunol*. 2019;10:1156.
- Vabret N, et al. Immunology of COVID-19: current state of the science. *Immunity*. 2020;52(6):910–941.
- Roncati L, et al. Type 3 hypersensitivity in COVID-19 vasculitis. *Clin Immunol*. 2020;217:108487.
- Weisberg SP, et al. Distinct antibody responses to SARS-CoV-2 in children and adults across the COVID-19 clinical spectrum. *Nat Immunol*. 2020;22(1):25–31.
- Gruber CN, et al. Mapping systemic inflammation and antibody responses in multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C). *Cell*. 2020;183(4):982–995.
- Jin Y, et al. Diagnostic value and dynamic variance of serum antibody in coronavirus disease 2019. *Int J Infect Dis*. 2020;94:49–52.
- Carter MJ, et al. Peripheral immunophenotypes in children with multisystem inflammatory syndrome associated with SARS-CoV-2 infection. *Nat Med*. 2020;26(11):1701–1707.
- Diorio C, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children and COVID-19 are distinct presentations of SARS-CoV-2. *J Clin Invest*. 2020;130(11):5967–5975.
- Lee PY, et al. Distinct clinical and immunological features of SARS-CoV-2-induced multisystem inflammatory syndrome in children. *J Clin Invest*. 2020;130(11):5942–5950.
- Anderson EM, et al. SARS-CoV-2 antibody responses in children with MIS-C and mild and severe COVID-19 [published online December 2, 2020]. *J Pediatric Infect Dis Soc*. <https://doi.org/10.1093/jpids/piaa161>.
- Consiglio CR, et al. The immunology of multisystem inflammatory syndrome in children with COVID-19. *Cell*. 2020;183(4):968–981.
- Fieschi C, et al. High levels of interferon gamma in the plasma of children with complete interferon gamma receptor deficiency. *Pediatrics*. 2001;107(4):E48.
- Crayne CB, et al. The immunology of macrophage activation syndrome. *Front Immunol*. 2019;10:119.
- Jinkawa A, et al. Cytokine profile of macrophage activation syndrome associated with Kawasaki disease. *Cytokine*. 2019;119:52–56.
- Lee WI, et al. Immune defects in active mycobacterial diseases in patients with primary immunodeficiency diseases (PIDs). *J Formos Med Assoc*. 2011;110(12):750–758.
- Huang K-J, et al. An interferon-gamma-related cytokine storm in SARS patients. *J Med Virol*. 2005;75(2):185–194.
- Tang Y, et al. Early diagnostic and prognostic significance of a specific Th1/Th2 cytokine pattern in children with haemophagocytic syndrome. *Br J Haematol*. 2008;143(1):84–91.
- Henter JJ, et al. HLH-2004: diagnostic and

- therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer*. 2007;48(2):124–131.
35. Chen Y, et al. Comparison of Th1/Th2 cytokine profiles between primary and secondary haemophagocytic lymphohistiocytosis. *Ital J Pediatr*. 2016;42(1):50.
 36. Bracaglia C, et al. Elevated circulating levels of interferon- γ and interferon- γ -induced chemokines characterize patients with macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2017;76(1):166–172.
 37. Colmenero I, et al. SARS-CoV-2 endothelial infection causes COVID-19 chilblains: histopathological, immunohistochemical and ultrastructural study of 7 paediatric cases. *Br J Dermatol*. 2020;183(4):729–737.
 38. McCrindle BW, et al. Diagnosis, treatment, and long-term management of kawasaki disease: a scientific statement for health professionals from the American Heart Association. *Circulation*. 2017;135(17):e927–e999.
 39. Garcia-Basteiro AL, et al. Seroprevalence of antibodies against SARS-CoV-2 among health care workers in a large Spanish reference hospital. *Nat Commun*. 2020;11(1):3500.
 40. Morita T, et al. Detection of hepatitis C virus RNA in circulating immune complexes by RT-PCR. *Hepatogastroenterology*. 1996;43(9):582–585.
 41. Aiyama T, et al. Sequence analysis of hypervariable region of hepatitis C virus (HeV) associated with immune complex in patients with chronic HCV infection. *J Infect Dis*. 1996;174(6):1316–1319.
 42. Rosenberg-Hasson Y, et al. Effects of serum and plasma matrices on multiplex immunoassays. *Immunol Res*. 2014;58(2–3):224–233.
 43. Metsalu T, Vilo J. ClustVis: a web tool for visualizing clustering of multivariate data using Principal Component Analysis and heatmap. *Nucleic Acids Res*. 2015;43(W1):W566–W570.
 44. Friendly M, Fox J. *candisc*. Version 0.8-5. CRAN. 2021. Accessed February 3, 2021.
 45. Kanegaye JT, et al. Recognition of a Kawasaki disease shock syndrome. *Pediatrics*. 2009;123(5):e783–e789.

7.4 Cuarta publicación

Clinical spectrum of COVID-19 and risk factors associated with severity in Spanish children.

Tagarro A, Cobos-Carrascosa E, Villaverde S, Sanz-Santaeufemia FJ, Grasa C, Soriano-Arandes A, Hernanz A, Navarro ML, Pino R, Epalza C, Batista R, Rizo J, Iglesias-Bouzas MI, Rodríguez-Molino P, Villanueva-Medina S, Carrasco-Colom J, Alonso-Cadenas JA, Mellado MJ, Herrero B, Melendo S, De La Torre M, Calleja L, Calvo C, Urretavizcaya-Martínez M, Astigarraga I, Menasalvas A, Penin M, Neth O, Berzosa A, De Ceano-Vivas M, Vidal P, Romero I, González R, García ML, Mesa JM, Ballesteros Á, Bernardino M, Moraleda C; EPICO-AEP Working Group.

- Revista: Eur J Pediatr. 2022 Mar;181(3):1105-1115.
- ISI Journal Citation Reports Ranking ® 2021: Q1.
- Factor de Impacto: 3.86

Responde a los objetivos:

1. Conocer las variables clínicas y epidemiológicas de los pacientes diagnosticados de MIS-C en nuestro entorno.

1.1 Describir las diferentes formas de presentación (signos, síntomas y afectación orgánica) y alteraciones analíticas de la enfermedad.

1.2 Determinar factores de riesgo de presentación de MIS-C.

Resumen de la cuarta publicación:

Objetivos: Identificar el espectro de la enfermedad en niños con COVID-19 y los factores de riesgo de ingreso en unidades de cuidados intensivos pediátricos (UCIP).

Material y Métodos:

Realizamos un estudio multicéntrico prospectivo de niños con infección por SARS-CoV-2 en 76 hospitales españoles. Se incluyeron niños con COVID-19 o síndrome multiinflamatorio (MIS-C) menores de 18 años, atendidos durante el primer año de la pandemia.

Resultados: Se reclutaron 1200 niños. Un total de 666 (55,5%) fueron hospitalizados y 123 (18,4%) requirieron ingreso en UCI-P. Los síndromes clínicos más frecuentes en la cohorte fueron el síndrome leve (que incluye infección del tracto respiratorio superior y síndrome gripal, problemas de piel o mucosas y asintomáticos), 44,8%; síndrome broncopulmonar (que incluye neumonía, bronquitis y crisis de asma), 18,5%; fiebre sin foco, 16,2%; MIS-C, 10,6%; y síndrome gastrointestinal, 10%. En los niños hospitalizados, las proporciones fueron del 28,5%, 25,7%, 16,5%, 19,1% y 10,2%, respectivamente. Los factores de riesgo asociados con el ingreso a la UCIP fueron la edad en meses (OR: 1,007; IC del 95 %: 1,004 a 1,01), MIS-C (OR: 14,4, IC del 95 %: 8,9 a 23,8), enfermedad cardíaca crónica (OR: 4,8, IC del 95 % 1,8 a 13), asma o sibilancias recurrentes (OR: 2,5, IC del 95%: 1,2 a 5,2) y después de excluir a los pacientes con MIS-C, enfermedad hepática moderada/grave (OR: 8,6, IC del 95%: 1,6 a 47,6).

Conclusiones:

Los niños hospitalizados con COVID-19 generalmente se presentan como uno de los cinco fenotipos clínicos principales de gravedad decreciente. Los factores de riesgo para la UCIP incluyen MIS-C, elevación de biomarcadores de inflamación, asma, enfermedad hepática moderada o grave y enfermedad cardíaca.



Clinical spectrum of COVID-19 and risk factors associated with severity in Spanish children

Alfredo Tagarro^{1,2,3} · Elena Cobos-Carrascosa² · Serena Villaverde² · Francisco-Javier Sanz-Santaeufemia⁴ · Carlos Grasa⁵ · Antoni Soriano-Arandes⁶ · Alicia Hernanz⁷ · María Luisa Navarro⁷ · Rosa Pino⁸ · Cristina Epalza^{2,9} · Rosa Batista¹ · Jana Rizo¹ · María-Isabel Iglesias-Bouzas¹⁰ · Paula Rodríguez-Molino⁵ · Sara Villanueva-Medina⁹ · Jaime Carrasco-Colom⁹ · José-Antonio Alonso-Cadenas⁴ · María-José Mellado⁵ · Blanca Herrero⁴ · Susana Melendo⁶ · Mercedes De La Torre⁴ · Lourdes Calleja⁴ · Cristina Calvo⁵ · María Urretavizcaya-Martínez¹¹ · Itziar Astigarraga¹² · Ana Menasalvas¹³ · María Penín¹⁴ · Olaf Neth¹⁵ · Arantxa Berzosa¹⁶ · María De Ceano-Vivas¹⁷ · Paula Vidal¹⁸ · Isabel Romero¹⁹ · Raúl González²⁰ · María Luz García²¹ · Juan-Miguel Mesa¹ · Álvaro Ballesteros² · María Bernardino¹ · Cinta Moraleda^{2,9} · EPICO-AEP Working Group

Received: 12 August 2021 / Revised: 6 October 2021 / Accepted: 28 October 2021 / Published online: 5 November 2021
© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2021

Abstract

We aimed to identify the spectrum of disease in children with COVID-19, and the risk factors for admission in paediatric intensive care units (PICUs). We conducted a multicentre, prospective study of children with SARS-CoV-2 infection in 76 Spanish hospitals. We included children with COVID-19 or multi-inflammatory syndrome (MIS-C) younger than 18 years old, attended during the first year of the pandemic. We enrolled 1200 children. A total of 666 (55.5%) were hospitalised, and 123 (18.4%) required admission to PICU. Most frequent major clinical syndromes in the cohort were mild syndrome (including upper respiratory tract infection and flu-like syndrome, skin or mucosae problems and asymptomatic), 44.8%; bronchopulmonary syndrome (including pneumonia, bronchitis and asthma flare), 18.5%; fever without a source, 16.2%; MIS-C, 10.6%; and gastrointestinal syndrome, 10%. In hospitalised children, the proportions were 28.5%, 25.7%, 16.5%, 19.1% and 10.2%, respectively. Risk factors associated with PICU admission were age in months (OR: 1.007; 95% CI 1.004 to 1.01), MIS-C (OR: 14.4, 95% CI 8.9 to 23.8), chronic cardiac disease (OR: 4.8, 95% CI 1.8 to 13), asthma or recurrent wheezing (OR: 2.5, 95% CI 1.2 to 5.2) and after excluding MIS-C patients, moderate/severe liver disease (OR: 8.6, 95% CI 1.6 to 47.6). However, asthmatic children were admitted into the PICU due to MIS-C or pneumonia, not due to asthma flare.

Conclusion: Hospitalised children with COVID-19 usually present as one of five major clinical phenotypes of decreasing severity. Risk factors for PICU include MIS-C, elevation of inflammation biomarkers, asthma, moderate or severe liver disease and cardiac disease.

What is Known:

- All studies suggest that children are less susceptible to serious SARS-CoV-2 infection when compared to adults. Most studies describe symptoms at presentation. However, it remains unclear how these symptoms group together into clinically identifiable syndromes and the severity associated with them.

What is New:

- We have gathered the primary diagnoses into five major syndromes of decreasing severity: MIS-C, bronchopulmonary syndrome, gastrointestinal syndrome, fever without a source and mild syndrome. Classification of the children in one of the syndromes is unique and helps to assess the risk of critical illness and to define the spectrum of the disease instead of just describing symptoms and signs.

Keywords COVID-19 · SARS-CoV-2 · Children · Clinical phenotypes · MIS-C · Severity

Communicated by Nicole Ritz

✉ Alfredo Tagarro
alfredotagarro@gmail.com

Extended author information available on the last page of the article

Abbreviations

COVID-19	Coronavirus infectious disease
CRP	C-reactive protein
FWS	Fever without source

HFO	High-flow oxygen
IQR	Interquartile range
MIS-C	Multisystem inflammatory syndrome in children
RT-PCR	Real-time polymerase chain reaction
OR	Odds ratio
PICU	Paediatric intensive care unit
URTI	Upper respiratory tract infection

Introduction

Children under 18 years of age represented a minority hospitalised COVID-19 cases during the first year of the pandemic [1, 2]. Their symptoms are usually milder [3–5]. Symptoms at presentation have been described in some studies [6]; however, it remains unclear how these symptoms group together into clinically identifiable phenotypes.

Only 0.4% of severe cases are children [7]. Risk factors that lead to severe disease in children have been partly described, and include young age, obesity and underlying comorbidities, lymphopenia and elevation of other inflammatory biomarkers including high C-reactive protein (CRP) [8–10].

The present study aimed to define further the spectrum of COVID-19 in children and the risk factors for hospitalisation and admission in paediatric intensive care units (PICUs) during the first year of the pandemic in Spain.

Methods

Design

The Epidemiological Study of Coronavirus in Children (EPICO-AEP) is a multicentre cohort study conducted in Spain to assess the characteristics of children with COVID-19. In total, 76 hospitals collected data from the beginning of the epidemic in Spain (March 12th) until March 22nd, 2021. The study was approved by the Ethics Committee of Hospital 12 de Octubre, Madrid (code 20/101), and other participating hospitals. Participants were enrolled after signed or verbal consent from parents/guardians and by the consent of patients older than 12 years.

Eligible participants were children aged from 0 to 18 years who attended in any of the hospitals of the network from the first patient included in March 12th, 2020, to March 22nd, 2021, with a SARS-CoV-2 infection confirmed by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR), rapid antigen test or children fulfilling WHO criteria for multi-system inflammatory syndrome in children (MIS-C) [11]. Children hospitalised were enrolled during the whole year. Children attended in the emergency rooms and discharged

without admission were recorded only until October 1st, 2020. Of the patients with MIS-C, 31 were described in a prior research report [12]. The protocol included follow-up until discharge.

Laboratory methods

Respiratory samples for SARS-CoV-2 RT-PCR were obtained from nasopharyngeal swabs and tracheal or bronchial aspirates, when available. Serum samples for SARS-CoV-2 serology were analysed in local clinical microbiology laboratories using commercial kits. The remaining haematological, biochemical and microbiological analyses were performed in the laboratories of each centre following routine validated methodology.

Definitions

Primary diagnoses related to COVID-19 were established according to data supplied by the attending physician. We categorised the diagnoses as the following: MIS-C, pneumonia, bronchitis, bronchiolitis, asthma flare or recurrent wheezing, flu-like syndrome, upper respiratory tract infection (URTI), fever without source (FWS), gastroenteritis, abdominal pain, skin or mucosae problems and asymptomatic. Diagnoses definitions are summarised in Supplementary Table 1. When more than one simultaneous diagnosis was present, a severity hierarchy was established to define the primary diagnosis, as follows: MIS-C > pneumonia > flu-like > gastroenteritis > bronchitis, bronchiolitis or asthma flare > URTI > fever without a source > abdominal pain > asymptomatic.

Admissions in PICUs did not follow uniform predefined criteria but as per clinical judgement.

For analysis purposes, diagnoses were categorised into five phenotypes: “MIS-C,” “bronchopulmonary disease” (including pneumonia, bronchiolitis, bronchitis and asthma flare), “gastrointestinal disease” (including gastroenteritis and abdominal pain), “fever without a source” and “mild disease” (URTI, flu-like syndrome, skin or mucosae problems and asymptomatic patients).

Data management and statistical analyses

Researchers from each participating hospital collected pseudo-anonymised data using a standardised clinical research form on the electronic data capture system RED-Cap [13]. Data included main epidemiological, demographic, clinical and laboratory variables.

Continuous variables were categorised according to standard definitions [14]. To dichotomise the continuous

variables without a standardised categorisation, optimal cut-off points were assessed using generalised additive models implemented in the cutpointR R package [15–17].

We analysed baseline risk factors for hospitalisation and admission into a PICU due to COVID-19 or complications with binary logistic regression. The procedure backwards stepwise (likelihood ratio), as an exploratory test, was performed for those binary variables with a p -value < 0.2 in the univariable analysis. Statistical analyses were performed using SPSS.

Results

Features of the cohort

A total of 1200 children were enrolled of whom 666 (55.5%) were hospitalised. The remaining 534 (45.5%) children were discharged from the Emergency Departments after evaluation and care (Supplementary Fig. 1). Weekly admissions during the first year of the pandemic are shown in Supplementary Fig. 2.

The median age was 4.7 years (interquartile range [IQR], 9 months to 5.6 years) and 664/1199 (55.4%) were male. Close contact with a patient with confirmed COVID-19 was confirmed in 644/1182 (54.5%) participants. Baseline clinical information of the whole cohort is summarised in Tables 1 and 2.

Comorbidities were present in 330 patients (27.5%) (Supplementary Table 2). Symptoms at presentation are shown in Fig. 3. The most frequent primary diagnoses were URTI, 290/1200 (24.1%); fever without a source, 194/1200 (16.1%); pneumonia, 163/1200 (13.6%); MIS-C, 127/1200 (10.6%); flu-like syndrome, 126/1200 (10.5%); asymptomatic, 115/1200 (9.6%); gastroenteritis, 86/1200 (7.2%); bronchitis, 36/1200 (3%); abdominal pain, 34/1200 (2.8%); bronchiolitis, 12/1200 (1%); asthma flare, 11/1200 (0.9%); and skin or mucosae problems, 6/1200 (0.5%).

For a better and easier understanding, we grouped them into five major clinical phenotypes: 538/1200 (44.8%) presented with mild disease, 222/1200 (18.5%) bronchopulmonary disease, 192/1200 (16.2%) fever without a source, 128/1200 (10.6%) MIS-C and 120/1200 (10%) gastrointestinal disease.

For the 666 hospitalised patients, the frequency of primary diagnosis is presented in Fig. 1. In summary, 189/666 (28.5%) had mild disease, 171/666 (25.7%) had bronchopulmonary disease, 127/666 (19.1%) had MIS-C, 110/666 (16.5%) had fever without a source and 68/666 (10.2%) had gastrointestinal disease.

The overlapping of diagnoses was not relevant: only 6% of children with respiratory disease had also gastrointestinal disease, and 20% of children with MIS-C had an X-ray compatible with pneumonia.

The patients with mild disease were admitted for different reasons, including significant prior serious comorbidity

Table 1 Summary characteristics of the total cohort globally and categorised by hospitalisation

Feature	Total		Not hospitalised		Hospitalised not PICU		PICU		p -value
	$N = 1200$	% of 1200	$n = 534$	% of feature	$n = 543$	% of feature	$n = 123$	% of feature	
Phenotypes									< 0.001
Mild	537	44.8	347	64.6	178	33.1	12	2.2	
Bronchopulmonary	222	18.5	51	23.0	143	64.4	28	12.6	
Fever without a source	194	16.2	84	43.3	108	55.7	2	1.0	
MIS-C (multisystem inflammatory syndrome)	127	10.6	0	0.0	51	40.2	76	59.8	
Gastrointestinal	120	10.0	52	43.3	63	52.5	5	4.2	
Sex									0.05
Male	665	55.4	280	42.1	306	46.0	79	11.9	
Close contact with COVID-19	644	53.7	309	48.0	280	43.5	55	8.5	0.013
Codetection	112	9.3	15	13.4	72	64.3	25	22.3	0.044
Virus-virus	33	2.8	8	24.2	16	48.5	9	27.3	
Virus-bacteria	78	6.5	7	9.0	55	70.5	16	20.5	
Respiratory support									< 0.001
Oxygen	182	15.2	6	3.3	89	48.9	87	47.8	
High-flow therapy	42	3.5		0.0	8	19.0	34	81.0	
Mechanical ventilation	32	2.7		0.0		0.0	32	100.0	
Complications	210		4	1.9	109	51.9	97	46.2	< 0.001

Table 2 Summary characteristics of the total cohort globally and categorised by hospitalisation (continuous variables)

	Total <i>N</i> = 1200	Not hospitalised <i>n</i> = 534	Hospitalised not PICU <i>n</i> = 543	PICU <i>n</i> = 123	<i>p</i> -value
Age (months), Median [IQR]	58 [9–136] <i>n</i> = 1156	63 [13–130] <i>n</i> = 497	36 [2–129.75] <i>n</i> = 536	120 [61–157] (excluding MIS-C): 101 [5–165] <i>n</i> = 123	<0.001
Weight percentile, Median [IQR]	50 [21–81] <i>n</i> = 979	53 [28–88] <i>n</i> = 401	41 [16.25–75] <i>n</i> = 476	53.5 [24–78] <i>n</i> = 102	<0.001
Fever days Median [IQR]	3 [2–6] <i>n</i> = 777	3 [2–4] <i>n</i> = 275	4 [2–7] <i>n</i> = 400	7 [5–9] <i>n</i> = 102	<0.001
Heart frequency Median [IQR]	124 [100–145] <i>n</i> = 874	110.5 [91–137] <i>n</i> = 268	130 [105–150] <i>n</i> = 487	126 [110–144] <i>n</i> = 119	<0.001
Respiratory frequency, Median [IQR]	30 [22–40] <i>n</i> = 450	26 [20–35] <i>n</i> = 89	31 [24–41] <i>n</i> = 277	30 [22–44] <i>n</i> = 84	0.004
Oxygen saturation (%), Median [IQR]	98 [97–99] <i>n</i> = 872	98 [97–99] <i>n</i> = 273	98 [97–99] <i>n</i> = 482	98 [95–99] <i>n</i> = 117	0.073
Systolic blood pressure Median [IQR]	102 [91–114] <i>n</i> = 517	110 [96–119] <i>n</i> = 87	102 [92–111] <i>n</i> = 319	97 [85–115] <i>n</i> = 111	<0.001
Diastolic blood pressure Median [IQR]	60 [52–69] <i>n</i> = 517	63 [56–70] <i>n</i> = 87	60 [52–69] <i>n</i> = 319	55 [47–67] <i>n</i> = 111	0.001
Haemoglobin (g/dL), Median [IQR]	12 [10–13] <i>n</i> = 86	12.5 [11–13] <i>n</i> = 16	12 [10–14] <i>n</i> = 55	11 [9–12] <i>n</i> = 15	0.123
Leucocytes (mm³), Median [IQR]	7900 [5120–11,697.5] <i>n</i> = 704	7300 [50750–9842] <i>n</i> = 118	7870 [5135–11480] <i>n</i> = 465	9600 [5205–15795] <i>n</i> = 121	0.005
Lymphocytes (mm³), Median [IQR]	1960 [992.5–3565] <i>n</i> = 700	2450 [1340–4000] <i>n</i> = 115	2150 [1115–3725] <i>n</i> = 465	800 [415–1852] <i>n</i> = 120	<0.001
Neutrophils (mm³), Median [IQR]	3640 [1800–7400] <i>n</i> = 701	3100 [1600–4900] <i>n</i> = 115	3451 [1747.5–7017.5] <i>n</i> = 466	6995 [2775–12,847.5] <i>n</i> = 120	<0.001
Platelets (mm³), Median [IQR]	255,500 [165000–379500] <i>n</i> = 730	267,000 [202750–363500] <i>n</i> = 128	270,000 [182000–389000] <i>n</i> = 479	180,000 [103000–311000] <i>n</i> = 123	<0.001
AST (U/L), Median [IQR]	36 [25–55] <i>n</i> = 554	31 [22–48.5] <i>n</i> = 88	34 [25–50] <i>n</i> = 355	49 [32–82] <i>n</i> = 111	<0.001
ALT (U/L), Median [IQR]	24 [15–45] <i>n</i> = 625	20 [15–29.5] <i>n</i> = 105	22 [15–39] <i>n</i> = 403	25 [43.5–87] <i>n</i> = 117	<0.001
C-reactive protein (mg/L), Median [IQR]	43 [5–152.75] <i>n</i> = 180	3.5 [1–11.25] <i>n</i> = 26	18 [4.5–112] <i>n</i> = 109	195 [120.5–246.5] <i>n</i> = 45	<0.001
Procalcitonin (ng/mL), Median [IQR]	9.5 [5–32.5] <i>n</i> = 16	5 [5–5] <i>n</i> = 1	6 [4.25–28.25] <i>n</i> = 8	16 [11–99] <i>n</i> = 7	0.246
Serum sodium (mEq/L), Median [IQR]	137 [135–139] <i>n</i> = 619	138 [136.5–140] <i>n</i> = 97	137 [135–139] <i>n</i> = 406	135 [133–139] <i>n</i> = 116	<0.001
Lactate dehydrogenase (U/L), Median [IQR]	321 [250–417] <i>n</i> = 455	248 [203–312.5] <i>n</i> = 65	326.5 [258–416.25] <i>n</i> = 284	368 [287.25–507.5] <i>n</i> = 106	<0.001
D-dimer (μg/L), Median [IQR]	1150 [448–3066.5] <i>n</i> = 361	350 [187–810] <i>n</i> = 29	926 [427–1965] <i>n</i> = 235	3078 [1631.5–5985] <i>n</i> = 97	<0.001
IL-6 (pg/mL), Median [IQR]	99.5 [12.25–1328.75] <i>n</i> = 76	- <i>n</i> = 0	12 [6–65] <i>n</i> = 34	263.5 [64.5–611.5] <i>n</i> = 42	<0.001
Ferritin (ng/mL), Median [IQR]	282 [97–680] <i>n</i> = 299	77 [41.5–279] <i>n</i> = 21	208.5 [78.5–522.75] <i>n</i> = 196	552 [282.75–1312.5] <i>n</i> = 82	<0.001
Urea (mg/dL), Median [IQR]	24 [17–32] <i>n</i> = 490	24.5 [16–32] <i>n</i> = 66	23 [17–30] <i>n</i> = 327	31 [21.5–49.5] <i>n</i> = 97	<0.001
NT-proBNP (pg/mL), Median [IQR]	7994 [3676–17974] <i>n</i> = 67	- <i>n</i> = 0	4650.5 [1653.25–9066.5] <i>n</i> = 24	10,324 [4051–20404] <i>n</i> = 43	0.011
Troponin I (ng/mL), Median [IQR]	320 [51–691] <i>n</i> = 13	- <i>n</i> = 0	78.5 [30–xx] <i>n</i> = 2	525 [72–702] <i>n</i> = 11	0.236

PICU, paediatric intensive care unit; *IQR*, interquartile range; *AST*, aspartate aminotransferase; *ALT*, alanine aminotransferase; *IL-6*, interleukin 6; *NT-proBNP*, N-terminal pro-B type natriuretic peptide

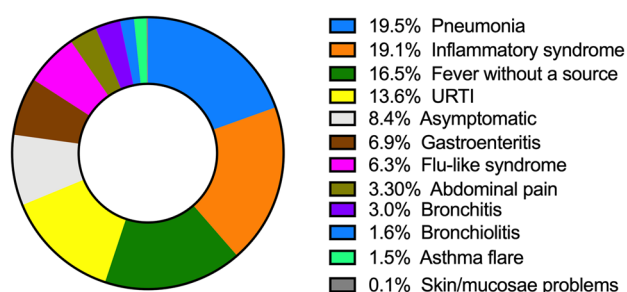


Fig. 1 Primary diagnoses of the 666 patients admitted with COVID-19

(18.8%), current concomitant autoimmune or thrombotic comorbidity (12.8%), current concomitant comorbidities not related with COVID-19 (11.3%), bacterial coinfections (8.5%), isolation (4.3%), other (3.2%) and unspecified reasons (40.9%) (see Supplementary Table 3).

A total of 206/666 (30.9%) hospitalised patients had complications. The most frequent complications were cardiological 75/666 (11.3%) and 59/666 (8.9%) shock. Cardiological complications included myocardial dysfunction 7.2%; valve dysfunction 2.6%; arrhythmia 2%; coronary abnormalities 1.8%; and aneurysms 0.5%. Other complications are outlined in Supplementary Table 4.

Coinfections were found in 97/666 (14.5%) patients, most often bacterial-viral infections (71/666; 10.6%).

Patients admitted to the PICU

A total of 123/666 (18.4%) hospitalised patients were admitted to a PICU, for a median of 5 (IQR 3) to 8 days (Table 1). The most frequent diagnoses were MIS-C 76/123 (61.8%) and pneumonia 27/123 (22%).

Nine (1.3% of hospitalised) patients died. Five of them had coinfections (3 bacterial due to *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* and *Clostridium difficile*), and two viral (*Parainfluenzae* and type 1 herpes virus). All except one had serious comorbidities, which were malignancies ($n=3$), autoimmune chronic pulmonary disease, dilated cardiomyopathy, STAT-3 immunodeficiency, severe congenital immunodeficiency and bronchopulmonary dysplasia. Three of them had haematopoietic stem cell transplantation. One patient without serious comorbidities had moderate overweight (body mass index, 24).

Four children needed extracorporeal membrane oxygenation support (ECMO), two of them died. A total of 57/123 (46.3%) children required inotropic support.

The risk of needing PICU admission was different across major clinical phenotypes. In the univariable analysis, only MIS-C had an increased risk of PICU (odds ratio [OR]: 32.5, 95% CI 20.5 to 51.5). Bronchopulmonary disease had an OR of 1.3 (95% CI 0.8 to 21.1), and the rest were protective:

FWS (OR: 0.07, 95% CI 0.01 to 0.1), gastrointestinal disease (OR: 0.3, 95% CI 0.1 to 0.8) and mild disease (OR: 0.1, 95% CI 0.06 to 0.2) (Fig. 2).

In the univariable model, male sex (OR: 1.5, 95% CI 1.02 to 2.2), not having an identified close contact (OR: 1.6, 95% CI 1.1 to 2.5) and some specific comorbidities as chronic cardiac disease (OR: 2.5, 95% CI 1.07 to 5.9), asthma or recurrent wheezing (OR: 2.1, 95% CI 1.2 to 3.9) and moderate/severe liver disease (OR: 5.3, 95% CI 1.2 to 22.7) were predictors for PICU admission.

In the multivariable model, baseline risk factors associated with PICU admission were age in months (OR: 1.007; 95% CI 1.004 to 1.01), MIS-C (OR: 14.4, 95% CI 8.9 to 23.8), chronic cardiac disease (OR: 4.8, 95% CI 1.8 to 13) and asthma or recurrent wheezing (OR: 2.5, 95% CI 1.2 to 5.2). However, out of 18 children with pre-existing asthma or recurrent wheezing, none of them was admitted with asthma flare, but ten were admitted with MIS-C and eight with pneumonia. Excluding MIS-C, only age in months (OR: 1.005; 95% CI 1.001 to 1.009) and moderate/severe liver disease (OR: 8.6, 95% CI 1.6 to 47.6) remained significant.

Among those patients with blood tests performed (see Table 2), abnormalities were also associated with PICU admission; specifically leucocytosis $> 15,000/\text{mm}^3$ (OR: 2.4, 95% CI 1.5 to 3.9), neutrophilia $> 10,000/\text{mm}^3$ (OR: 4.3, 95% CI 2.8 to 6.8), lymphopenia $< 1000/\text{mm}^3$ (OR: 5.6, 95% CI 3.6 to 8.6), thrombopenia $< 150,000/\text{mm}^3$ (OR: 4.9, 95% CI 3.2 to 7.5), CRP $> 20 \text{ mg/L}$ (OR: 18.9, 95% CI 5.5 to 64), GPT $> 37 \text{ U/L}$ (OR: 4.2, 95% CI 2.8 to 6.5), LDH $> 500 \text{ U/L}$ (OR: 2.2, 95% CI 1.3 to 3.8), hyponatremia $< 135 \text{ mmol/L}$ (OR: 3.4, 95% CI 2.2 to 5.2), D-dimer $> 500 \text{ ng/mL}$ (OR: 4.4, 95% CI 2.1 to 8.9), IL-6 $> 8.5 \text{ pg/mL}$ (OR: 32.2, 95% CI 3.9 to 263), ferritin $> 400 \text{ mg/dL}$ (OR: 3.9, 95% CI 2.2 to 6.7).

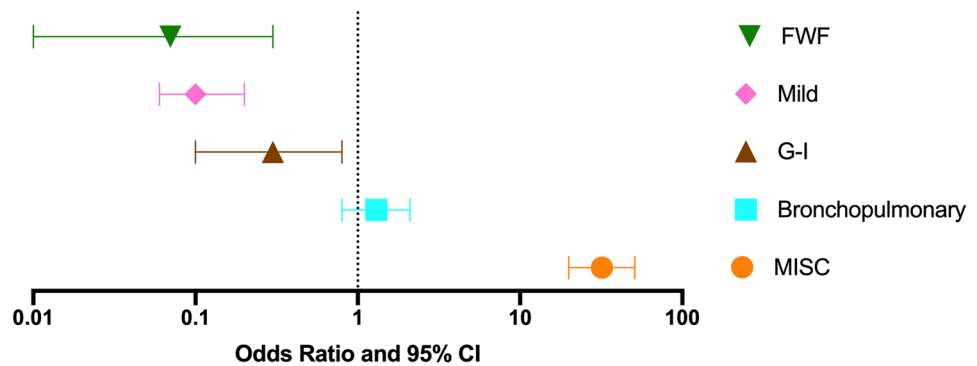
MIS-C patients

A total of 127 (19.1% of hospitalised) children were diagnosed with MIS-C. The median age was 9.2 years (IQR 5.2 to 12.5). Of them, 35 (27.6%) fulfilled the criteria for Kawasaki disease, and 76/127 (59.8%) needed admission to a PICU.

A total of 54 children (42.5%) had positive SARS-CoV-2 RT-PCR in respiratory samples (nasopharyngeal swab or bronchial aspirate); IgM was positive in 32/99 (32%) and IgG in 96/105 tested (91%). All patients who were IgM positive were also IgG positive. Blood tests found in MIS-C revealed high-level inflammation and target-organ damage (Supplementary Table 5).

Cardiological complications (71/127, 56%) consisted of myocardial dysfunction 48/127 (37%), valvular dysfunction 17/127 (13%), pericardial effusion 12/127 (9.4%), arrhythmias 12/127 (9.4%) and coronary abnormalities 12/127

Fig. 2 Odds ratio and 95% confidence interval of PICU admission across major phenotypes. Horizontal axis is displayed as log (10) scale. FWF, fever without a source; G-I, gastrointestinal disease; MIS-C, multi-inflammatory syndrome



(9.4%), of which 3/127 (2.3%) were aneurysms, and one of them a giant aneurysm in anterior descending artery (Z-score + 9). Other complications included renal failure 17/127 (13.3%), need of mechanical ventilation 16/127 (12.5%) and need of oxygen 58/127 (45.7%).

Three patients died: one patient with acute leukaemia and bone marrow transplant, one with overweight and one with malignant neoplasm.

Specific treatment was provided as follows: steroids only 22/126 (17.3%), intravenous immunoglobulin only 18/126 (14.2%), both 79/126 (62.2%) and none 7/126 (5.5%). Steroids used were mostly intravenous metil-prednisolone (119/126, 95%).

Median time of PICU admission was 5 days [3 to 7], and median time of admission was 9 days [6 to 12].

In the multivariable model, baseline features that in the model were associated with MIS-C were age in months (OR: 1.01, CI 95%: 1.007 to 1.01), male gender (OR: 1.7, CI 95%: 1.1 to 2.6) and immunosuppressive medication (OR: 6.4, 95% CI 2.2 to 18.5).

Discussion

In this study, we have identified the spectrum of COVID-19 in children attended in Spanish hospitals during the first year of pandemic. Initial features of COVID-19 are very unspecific, and patients may show a very wide spectrum of sign and symptoms, as shown in Fig. 3. We have identified twelve frequent diagnoses that can be grouped into five major clinical phenotypes for a more practical approach: MIS-C, bronchopulmonary disease, gastrointestinal disease, fever without a source (FWS) and mild disease. This classification better defines COVID-19 in children than previous definitions and can guide severity assessment.

We identified similar risk factors for critical disease as other studies [8, 18, 19]. We added some new factors, especially specific comorbidities. Interestingly, immunosuppression and neoplasia were not risk factors for PICU admission, although most deceased patients had serious

immunosuppression or cancer. Most deceased patients were patients with severe comorbidities, and half of them had coinfections.

Age, asthma or recurrent wheezing and heart diseases are risk factors for PICU admission. Liver disease was in the limit of significance. Interestingly, asthmatic patients were not admitted to the PICU due to asthma flare, but due to pneumonia or MIS-C. These risk factors seem to influence predominantly patients with MIS-C, because after excluding patients with MIS-C of the analysis, only age and chronic liver disease remained as risk factors for PICU. Additionally, immunosuppressive treatments were risk factors for MIS-C. This may be considered for stepwise immunisation strategies in children, so those with significant pre-existing comorbidities get immunised first.

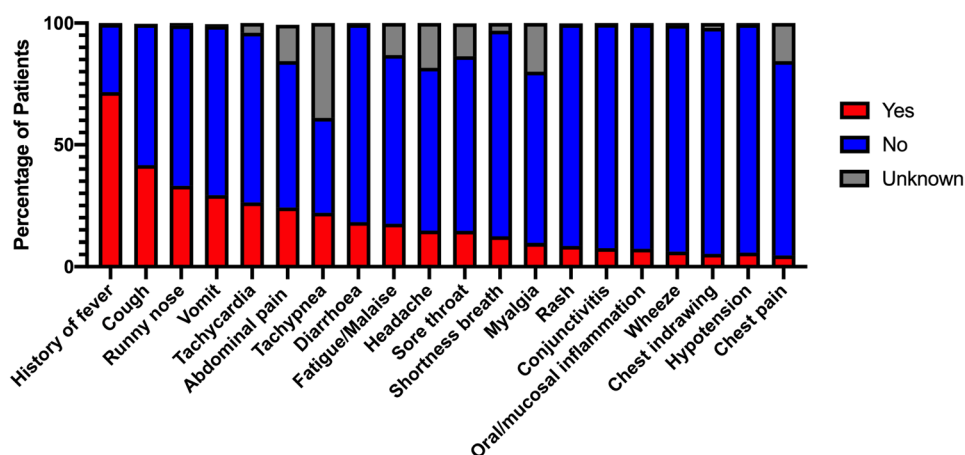
Other risk factors as IL-6, CRP, D-dimer and cytopaenia suggest immune dysregulation and severe inflammation in critical patients. CD4 and natural killer T-cell cytopaenia due to immune dysregulation have been described previously [20].

Immune dysregulation may also be involved in manifestations that are not clearly related to COVID-19 but have been found in this and other cohorts, such as diabetic debut, haemolytic anaemia or appendicitis. A significant increase in diabetic ketoacidosis in children was found during the COVID-19 pandemic [21]. A clinical picture consistent with appendicitis in children has been reported, as well as ileitis [22, 23]. In this study, some patients with appendicitis, diabetic debut and ileitis were also identified concomitantly or soon after SARS-CoV-2 infection.

Immune dysregulation is also involved in MIS-C. Some features of MIS-C, such as shock or cardiac disease, may be responsible for laboratory abnormalities such as high ALT or creatinine (Supplementary Table 5). However, specific mechanisms for kidney injury secondary to COVID-19 have been previously proposed [24].

The national seroprevalence study ENE-COVID [2] suggests that in December, 400,000 children were seropositive in Spain. Considering that our study included 10% of the 800 private and public hospitals of Spain, including

Fig. 3 Signs and symptoms at presentation of the 1200 enrolled patients. Those present in <5% of patients are not displayed



most tertiary public hospitals, likely less than 1% of children with COVID-19 needed hospitalisation; and less than 0.05% needed intensive care.

This study included children attended in different hospitals. There is a risk of selection, case identification and reporting bias for hospitalisation and for PICU admission. Access to SARS-CoV-2 testing was not consistent during the enrolment, especially during the first wave. The diversity and broadness of the study are strengths, as they provide insight into the disease in a major clinical part of Spain through a prospective collection of data.

Although viral-bacterial coinfection was found in a significant proportion of hospitalised children, a full workup for coinfections was not done uniformly, and thus the role of coinfections is not completely clear. The study included few neonates because most neonates with COVID-19 in Spain were included in a different neonatal registry.

The ethnic origin was not recorded, so we cannot compare our study with other studies suggesting worse outcome in minorities. The categorisation and interpretation of this variable tend to be simplistic—for instance, Black versus others or Caucasians versus others, and the minority factor is often linked to economical and sociodemographic characteristics, which we did not collect [25, 26].

We believe that this classification is unique and helps to define the spectrum of the disease instead of just describing symptoms and signs. Understanding different clinical manifestations, and the heterogeneity of infection and post-infection manifestations, may help in diagnostic strategies.

Conclusions

The infrequent COVID-19 that requires hospitalisation in children presents as any of five major clinical phenotypes of decreasing severity: MIS-C, bronchopulmonary disease, gastrointestinal disease, mild disease and fever without a

source. Risk factors for PICU include MIS-C, inflammation biomarkers and specific comorbidities as asthma, moderate or severe liver disease, and cardiac disease.

Supplementary information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s00431-021-04306-6>.

Acknowledgements We thank all the patients and families for their participation in the study, and the laboratory staff and clinical staff members who cared for them. Thanks to Kenneth McCreath (Universidad Europea de Madrid) for the style and English revision. EPICO-AEP Working Group: Francisco José Sanz, María Isabel Iglesias-Bouzas, Jose Antonio Alonso Cadenas, Blanca Herrero (Hospital Infantil Universitario Niño Jesús), Teresa del Rosal, Ana Méndez-Echevarría, Talía Sainz, Clara Udaondo, Fernando Baquero, Cristina Calvo, Carlos Grasa, Paula R Molino, María José Mellado, María Ceano, Victor Galán, Marta Melgosa, Paula García Sanchez, Sonsoles San Roman (Hospital Universitario La Paz), Alicia Hernanz Lobo, Mar Santos, Marisa Navarro, Elena Rincón, David Aguilera, Begoña Santiago, Jorge Huerta, Eduardo Bardón, Jorge Lorente (Hospital Universitario Gregorio Marañón), Pablo Rojo, Daniel Blázquez, Luis Prieto, Elisa Fernández-Cooke, David Torres-Fernández, Ángela Manzanares, Jaime Carrasco, Cristina Epalza, Jesús Contreras, Sara Domínguez, Sara Villanueva, Arantxa Gonzalez (Hospital Universitario 12 de Octubre), Cinta Moraleda, Alfredo Tagarro, Elena Cobos, Álvaro Ballesteros, Sara Domínguez-Rodríguez (Instituto de Investigación 12 de Octubre), Gemma Pons, Silvia Simó, Miguel Lanaspá, Victoria Fumadó, Rosa María Pino, (Hospital Sant Joan de Déu), María Espiau, Jacques G. Rivière, Pere Soler-Palacín, Antonio Soriano Arandes, Natalia Mendoza (Hospital Universitari Vall d'Hebron), Mercedes Herranz, María Urretavizcaya Martínez (Complejo Hospitalario de Navarra), Fernando Cabañas, Fátima Ara, Marta Baragaño (Hospital Universitario Quirónsalud Madrid), Rut del Valle, Ana González-de-Zárate, Mónica Pacheco, María Luisa Herreros, Julia Yebra, Beatriz Pérez-Seoane, María Fernández, Teresa Raga, María de la Serna, Ane Plazaola, Juan Miguel Mesa, Rosa Batista, Ana Barrios, Ignacio Navarro, Jana Rizo, Teresa Reinoso, Alfonso Cañete (Hospital Universitario Infanta Sofía), María Dolores Martín, Elena Sáez, Olga Nerea Coya, Fernando Cava (BR Salud), Enrique Otheo, Juan Carlos Galán, José Luis Vázquez, Carmen Vázquez, Victor Quintero (Hospital Universitario Ramón y Cajal), Lola Falcón, Olaf Neth, Peter Olbrich, Walter Goicoechea, Cati Márquez, Marisol Camacho, Inés Marín Cruz (Hospital Universitario Virgen del Rocío), Laura Martín (Hospital Universitario Regional de Málaga), Lucía Figueroa (Hospital de Villalba), María Llorente (Hospital Universitario del Sureste), María Penin, Claudia García,

María García, Teresa Alvaredo (Hospital Universitario Príncipe de Asturias), M^a Inmaculada Olmedo, Agustín López, María Jose Pérez (Hospital Universitario Puerta de Hierro), Elvira Cobo (Hospital Fundación Alcorcón), Mariann Tovizi (Hospital del Tajo), Pilar Galán (Hospital Fundación Fuenlabrada), Beatriz Soto, Sara Guillén (Hospital de Getafe), Adriana Navas (Hospital Universitario Infanta Leonor) M. Luz García (Hospital de Leganés), Sara Pérez (Hospital de Torrejón), Amanda Bermejo, Pablo Mendoza (Hospital de Móstoles), Gema Sabrido (Hospital Rey Juan Carlos), María José Hernández (Hospital Central de la Defensa), Ana Belén Jiménez (Fundación Jiménez Díaz), Arantxa Berzosa, José Tomás Ramos, Marta Illán (Hospital Clínico San Carlos), Ana López, Nerea Gallego (Hospital Universitari Son Espases), Beatriz Ruiz (Hospital Universitario Reina Sofía), Santiago Alfayate, Ana Menasalvas, Eloísa Cervantes (Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca), María Méndez (Institut d'Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol), Ángela Hurtado (Instituto Hispalense de Pediatría), Cristina García, Inés Amich, Yolanda Ruiz (Hospital San Pedro), Manuel Oltra, Álvaro Villarroja-Villalba, Adela Cañete, Bienvenida Argiles (Hospital Universitari i Politècnic La Fe), Angustias Ocaña (Hospital La Moraleja), Isabel Romero, María Fernanda Guzmán (Hospitales Madrid), M.J. Pascual (Hospital Nisa), María Sánchez-Códez (Hospital Universitario Puerta del Mar), Elena Montesinos (Consorci Hospital General Universitari de València), Julia Jensen, María Rodríguez (Hospital Universitario Infanta Cristina), Gloria Caro (Hospital Universitario Infanta Elena), Neus Rius, Alba Gómez (Hospital Universitari Sant Joan de Reus), Rafael Bretón (Hospital Clínico Universitario de Valencia), Margarita Rodríguez, Julio Romero, Juan Francisco Pascual Gazquez (Hospital Universitario Virgen de las Nieves), Ana Campos (Hospital Universitario Sanitas La Zarzuela), Mercedes García (Hospital de Mérida), Rosa María Velasco (Complejo Hospitalario de Toledo), Zulema Lobato (Althaia, Xarxa Assistencial Universitària de Manresa), Fernando Centeno, Elena Pérez, Alfredo Cano (Hospital Universitario Río Hortega), Paula Vidal (Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa), Corsino Rey, Ana Vivanco, Maruchi Alonso (Hospital Universitario Central de Asturias), Pedro Alcalá, Javier González de Dios, Laura Ureña Horno (Hospital General Universitario de Alicante), Eduard Solé, Laura Minguell (Hospital Universitari Arnau de Vilanova), Itziar Astigarraga, Olatz Villate, Susana García Obregón (Hospital Universitario de Cruces), M^a Ángeles Vázquez, Miguel Sánchez, Leticia Martínez Campos (Hospital Universitario Torrecárdenas), Elena Díaz (Hospital Virgen de la Luz), Eduardo Consuegra, Susana Riesco, Almudena González, Maika Mendoza (Hospital Universitario de Salamanca), María Cabanillas (Complejo Asistencial Universitario de Palencia), Yeray Novoa-Medina, Elena Colino-Gil, Ana Reyes-Domínguez, Luis Peña-Quintana (Hospital Universitario Materno Infantil de las Palmas), Elisa Garrote, Maite Goicoechea, Ainhoa Gondra Sangroniz (Hospital Universitario de Basurto), Irene Centelles (Hospital General Universitari de Castelló), Santiago Lapeña, Sara Gutiérrez, Soraya Gutiérrez (Complejo Asistencial Universitario de León), Amparo Cavalle (PIUS Hospital de Valls), José María Olmos (Hospital Mare de Déu dels Liris), Alejandro Cobo, Sara Díaz, Cristina Martínez Faci, Macarena Gonzalez Cruz, Beatriz Castro (Hospital Universitario de Canarias), Beatriz Jiménez, Cristina Alvarez Alvarez (Hospital Universitario Marqués de Valdecilla), Raúl González (Hospital Sant Joan d'Alacant), Miguel Lafuente, Matilde Bustillo (Hospital Infantil de Zaragoza), Natividad Pons, Julia Morata (Hospital Lluís Alcanyis), Elsa Segura (Hospital Universitario Son Llatzer de Palma de Mallorca), María Bernardino (Universidad Europea de Madrid), Marta Pareja León (Complejo Hospitalario Universitario de Albacete), Ana Domingo Ruiz (Hospital de Manacor), Eider Oñate, Nagore García de Andoin Baran (Hospital Universitario Donostia), Nerea Domínguez-Pinilla (Hospital Virgen de la Salud), María Teresa Coll Sibina (Hospital General de Granollers), María Jesús García García (Hospital Universitario de Cáceres), Marta Osuna (Hospital HM Montepíncipe),

Raquel Portugal (Hospital Universitario de Burgos), Leonor García Maset (Hospital de Sagunto), Belén Sevilla (Hospital Universitario San Cecilio Granada), Noelia Berciano Jiménez (Hospital Virgen de la Macarena, Sevilla).

Authors' contributions AT and CM conceptualised and designed the study. AT performed the statistical analysis. AT, CM, CG, AS and SV drafted the manuscript. All co-authors participated in the collection of data. All co-authors participated and were involved in the critical review of the final manuscript.

Funding The study was funded by: Project PI20/00095, from the Instituto de Salud Carlos III (Ministry of Economy, Industry and Competitiveness) and cofunded by the European Regional Development Fund; and by SERMAS-Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital 12 de Octubre, Elena Cobos is supported by a specific Research Project of the Spanish Society of Paediatrics (*Asociación Española de Pediatría*); Grant Covid-19 EPICO-AEP 2020, Carlos Grasa is funded by the Spanish Ministry of Science and Innovation—Instituto de Salud Carlos III and Fondos FEDER (Contrato Río Hortega CM19/00015), Serena Villaverde is funded by the Spanish Ministry of Science and Innovation—Instituto de Salud Carlos III and Fondos FEDER (Contrato Río Hortega CM20/00173), Juan Miguel Mesa is funded by SERMAS-Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Infanta Sofía y del Henares, María Bernardino is funded by the Becas Cantera Santander-Fundación Universidad Europea de Madrid.

Availability of data and material Available on reasonable request.

Declarations

Ethics approval The study was approved by the Ethics Committee of Hospital 12 de Octubre, Madrid (code 20/101), and other participating hospitals.

Consent to participate Participants were enrolled after signed or verbal consent from parents/guardians and by the consent of patients older than 12 years.

Consent for publication Not applicable.

Conflict of interest The authors declare no competing interests.

References

1. Qiu H, Wu J, Hong L, Luo Y, Song Q, Chen D (2020) Clinical and epidemiological features of 36 children with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in Zhejiang, China: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis* [Internet] 20(6):689–96. Available from: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30198-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30198-5)
2. Instituto de Salud Carlos III (2020) Estudio ENE-COVID: cuarta ronda estudio nacional de sero-epidemiología de la infección por SARS-CoV-2 en España. December 15th
3. Gudbjartsson DF, Helgason A, Jonsson H, Magnusson OT, Melsted P, Norddahl GL et al (2020) Spread of SARS-CoV-2 in the Icelandic population. *N Engl J Med* 382(24):2302–2315
4. Lavezzo E, Franchin E, Ciavarella C, Cuomo-Dannenburg G, Barzon L, Del Vecchio C et al (2020) Suppression of a SARS-CoV-2 outbreak in the Italian municipality of Vo'. *Nature* 584(August):425–429
5. Viner RM, Mytton OT, Bonell C, Melendez-Torres GJ, Ward J, Hudson L et al (2020) Susceptibility to SARS-CoV-2 infection

- among children and adolescents compared with adults: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Pediatr* 1–14
6. Bi Q, Wu Y, Mei S, Ye C, Zou X, Zhang Z et al (2020) Epidemiology and transmission of COVID-19 in 391 cases and 1286 of their close contacts in Shenzhen, China: a retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis* 20(8):911–919
 7. Dong Y, Dong Y, Mo X, Hu Y, Qi X, Jiang F et al (2020) Epidemiology of COVID-19 among children in China. *Pediatr* 145(6)
 8. Fernandes DM, Oliveira CR, Guerguis S, Eisenberg R, Choi J, Kim M et al (2020) SARS-CoV-2 clinical phenotypes and predictors of disease severity in hospitalized children and youth. *J Pediatr* [Internet]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33197493>
 9. Riphagen S, Gomez X, Gonzalez-Martinez C, Wilkinson N, Theocharis P (2020) Hyperinflammatory shock in children during COVID-19 pandemic. *Lancet* [Internet] 395(10237):1607–1608. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31094-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31094-1)
 10. Manson JJ, Crooks C, Naja M, Ledlie A, Goulden B, Liddle T et al (2020) COVID-19-associated hyperinflammation and escalation of patient care: a retrospective longitudinal cohort study. *Lancet Rheumatol* [Internet] 2(10):e594–602. Available from: [https://doi.org/10.1016/S2665-9913\(20\)30275-7](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(20)30275-7)
 11. World Health Organ (2020) Multisystem inflammatory syndrome in children and adolescents with COVID-19 1–3. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/multisystem-inflammatory-syndrome-in-children-and-adolescents-with-covid-19>
 12. Moraleda C, Serna-Pascual M, Soriano-Aranda A et al (2021) Multi-inflammatory syndrome in children related to SARS-CoV-2 in Spain. *Clin Infect Dis* 4;72(9):e397–e401. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1042>
 13. Harris PA, Taylor R, Thielke R, Payne J, Gonzalez N, Conde JG (2009) Research electronic data capture (REDCap)—a metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support. *J Biomed Inform* [Internet] 42(2):377–381. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jbi.2008.08.010>
 14. ACLS Medical Training. Normal values in children. <https://www.aclsmedicaltraining.com/normal-values-in-children/> Last Consulted, May 20th, 2021
 15. Thiele C, Hirschfeld G (2020) Package cutpointr: improved estimation and validation of optimal cutpoints in R. Version 1.0.32. ; Available from: <http://arxiv.org/abs/2002.09209>
 16. Villanueva RA, Chen ZJ, Wickham H (2016) ggplot2: elegant graphics for data analysis. In: Springer-Verlag New York
 17. Goodrich B, Gabry J AI& BS (2020) rstanarm: Bayesian applied regression modeling via Stan. In: R package version 2211
 18. Swann OV, Holden KA, Turtle L, Pollock L, Fairfield CJ, Drake TM et al (2020) Clinical characteristics of children and young people admitted to hospital with COVID-19 in United Kingdom: prospective multicentre observational cohort study. *BMJ* 370:1–15
 19. Wang S, Fu L, Huang K, Han J, Zhang R, Fu Z (2020) Neutrophil-to-lymphocyte ratio on admission is an independent risk factor for the severity and mortality in patients with coronavirus disease 2019. *J Infect*
 20. Giamarellos-Bourboulis EJ, Netea MG, Rovina N, Akinosoglou K, Antoniadou A, Antonakos N et al (2020) Complex immune dysregulation in COVID-19 patients with severe respiratory failure. *Cell Host Microbe* [Internet] 27(6):992–1000 e3. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.04.009>
 21. Kamrath C, Mönkemöller K, Biester T, Rohrer TR, Warncke K, Hammersen J, Holl RW (2020) Ketoacidosis in children and adolescents with newly diagnosed type 1 diabetes during the COVID-19 pandemic in Germany. *JAMA* 324(8):801–804
 22. Zachariah P, Johnson CL, Halabi KC, Ahn D, Sen AI, Fischer A et al (2020) Epidemiology, clinical features, and disease severity in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in a children's hospital in New York City. *New York JAMA Pediatr* 174(10):1–7
 23. Lishman J, Kohler C, de Vos C, van der Zalm MM, Itana J, Redfern A et al (2020) Acute appendicitis in multisystem inflammatory syndrome in children with COVID-19. *Pediatr Infect Dis J* Publish Ah(12):472–473
 24. Stewart DJ, Hartley JC, Johnson M, Marks SD, du Pré P, Stojanovic J (2020) Renal dysfunction in hospitalised children with COVID-19. *Lancet Child Adolesc Heal* 4(8):e28–e29
 25. Vasconcelos MK, Epalza C, Renk H, Tagarro A, Bielicki JA (2020) Harmonisation preserves research resources. *Lancet Infect Dis* [Internet] 20(20):30585. Available from: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30585-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30585-5)
 26. Price-Haywood EG, Burton J, Fort D, Seoane L (2020) Hospitalization and mortality among black patients and white patients with COVID-19. *N Engl J Med* 382(26):2534–2543

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Authors and Affiliations

Alfredo Tagarro^{1,2,3}  · Elena Cobos-Carrascosa² · Serena Villaverde² · Francisco-Javier Sanz-Santaeufemia⁴ · Carlos Grasa⁵ · Antoni Soriano-Aranda⁶ · Alicia Hernanz⁷ · María Luisa Navarro⁷ · Rosa Pino⁸ · Cristina Epalza^{2,9} · Rosa Batista¹ · Jana Rizo¹ · María-Isabel Iglesias-Bouzas¹⁰ · Paula Rodríguez-Molino⁵ · Sara Villanueva-Medina⁹ · Jaime Carrasco-Colom⁹ · José-Antonio Alonso-Cadenas⁴ · María-José Mellado⁵ · Blanca Herrero⁴ · Susana Melendo⁶ · Mercedes De La Torre⁴ · Lourdes Calleja⁴ · Cristina Calvo⁵ · María Urretavizcaya-Martínez¹¹ · Itziar Astigarraga¹² · Ana Menasalvas¹³ · María Penín¹⁴ · Olaf Neth¹⁵ · Arantxa Berzosa¹⁶ · María De Ceano-Vivas¹⁷ · Paula Vidal¹⁸ · Isabel Romero¹⁹ · Raúl González²⁰ · María Luz García²¹ · Juan-Miguel Mesa¹ · Álvaro Ballesteros² · María Bernardino¹ · Cinta Moraleda^{2,9} · EPICO-AEP Working Group

Elena Cobos-Carrascosa
elena.cobos@gmail.com

Serena Villaverde
serenavillaverde@outlook.es

Francisco-Javier Sanz-Santaeufemia
sanzsantaeufemiafj@gmail.com

Carlos Grasa
carlosgrasa@gmail.com

Antoni Soriano-Aranda
tsorianoaranda@gmail.com

Alicia Hernanz
h.lobo.alicia@gmail.com

María Luisa Navarro
marisa.navarro.gomez@gmail.com

Rosa Pino
rpino@sjdhospitalbarcelona.org

Cristina Epalza
crepalza@hotmail.com

Rosa Batista
rangelab.atista@salud.madrid.org

Jana Rizo
jrizo.hrc@salud.madrid.org

María-Isabel Iglesias-Bouzas
mabigl@yahoo.com

Paula Rodríguez-Molino
paularmolino@gmail.com

Sara Villanueva-Medina
s.villanuevamedina@gmail.com

Jaime Carrasco-Colom
jcarrascocolom@gmail.com

José-Antonio Alonso-Cadenas
jalonsocadenas@gmail.com

María-José Mellado
mariajose.mellado@salud.madrid.org

Blanca Herrero
blanca.herrero@hotmail.com

Susana Melendo
smelendo@vhebron.net

Mercedes De La Torre
mtorrespi@ono.com

Lourdes Calleja
mismisimalou@gmail.com

Cristina Calvo
ccalvory@gmail.com

María Urretavizcaya-Martínez
mariaurretavizcaya@hotmail.com

Itziar Astigarraga
mariaiciar.astigarragaaguirre@osakidetza.eus

Ana Menasalvas
amenasalvas@hotmail.com

María Penin
mariapenin@yahoo.es

Olaf Neth
olafneth@gmail.com

Arantxa Berzosa
aranire@msn.com

María De Ceano-Vivas
mceanovivas@yahoo.es

Paula Vidal
pauuv.810@gmail.com

Isabel Romero
iromero@hnhospitales.com

Raúl González
gonzalez_rau@gva.es

María Luz García
marialuz.hso@gmail.com

Juan-Miguel Mesa
juanmiguelmesa@hotmail.com

Álvaro Ballesteros
a.ballesteros.h12o@gmail.com

María Bernardino
maria.bernardino.96@hotmail.com

Cinta Moraleda
maria.bernardino.96@hotmail.com

- ¹ Paediatrics Department, Paediatrics Research Group, Hospital Universitario Infanta Sofía, Universidad Europea de Madrid, Madrid, Spain
- ² Fundación de Investigación Biomédica Hospital 12 de Octubre, Instituto de Investigación 12 de Octubre (imas12), RITIP (Translational Research Network in Paediatric Infectious Diseases), Madrid, Spain
- ³ Pediatrics Department, Hospital Universitario Infanta Sofía, Madrid, Spain
- ⁴ Paediatrics Department, Hospital Universitario Niño Jesús, Madrid, Spain
- ⁵ Paediatrics, Infectious and Tropical Diseases Department, Hospital Universitario La Paz, RITIP (Translational Research Network in Paediatric Infectious Diseases), Instituto Investigación Hospital La Paz (IDIPaz), Madrid, Spain
- ⁶ Infectious Diseases and Paediatric Immunology Unit, Department of Paediatrics, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona, Spain
- ⁷ Paediatric Infectious Diseases Unit, Department of Paediatrics, Hospital Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain
- ⁸ Paediatric Infectious Diseases Unit, Department of Paediatrics, Hospital Universitario Sant Joan de Deu Barcelona, Barcelona, Spain
- ⁹ Paediatric Infectious Diseases Unit, Department of Paediatrics, Paediatric Research and Clinical Trials Unit (UPIC), Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, Spain
- ¹⁰ Paediatric Intensive Care Unit, Hospital Universitario Niño Jesús, Madrid, Spain
- ¹¹ Paediatrics Department, Complejo Hospitalario de Navarra, Pamplona, Spain
- ¹² Department of Pediatrics, Hospital Universitario Cruces, Biocruces Bizkaia Health Research Institute, University of the Basque Country UPV/EHU, OsakidetzaBarakaldo, Spain
- ¹³ Paediatrics Department, Hospital Universitario Virgen de La Arrixaca, Murcia, Spain
- ¹⁴ Paediatrics Department, Hospital Príncipe de Asturias, Alcalá de Henares, Madrid, Spain
- ¹⁵ Paediatrics Department, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, Spain
- ¹⁶ Paediatrics Department, Hospital Universitario Clínico San Carlos, Madrid, Spain

- ¹⁷ Emergency Pediatrics Department, Hospital Universitario La Paz, Instituto Investigación Hospital La Paz (IDIPaz), Madrid, Spain
- ¹⁸ Paediatrics Department, Hospital Universitario Lozano Blesa, Zaragoza, Spain
- ¹⁹ Paediatrics Department, Hospitales HM, Madrid, Spain
- ²⁰ Paediatrics Department, Hospital Universitario Sant Joan, Comunidad Valenciana, AlacantAlicante, Spain
- ²¹ Paediatrics Department, Hospital Universitario Severo Ochoa, Leganés, Madrid, Spain

DISCUSIÓN

8 DISCUSIÓN

8.1 Primeros casos de EK asociada a SARS-CoV-2 en nuestro medio. Definición de caso clínico.

Como ya hemos comentado anteriormente, la EK es una vasculitis aguda de los vasos de mediano calibre, que afecta casi exclusivamente a niños. Parece ser causada por una interacción compleja entre factores genéticos e inmunitarios desencadenados por infecciones (149,173,174). Varios patógenos han estado involucrados en la patogenia de la EK, incluidos los retrovirus, el virus de Epstein-Barr, el parvovirus B19, y también el coronavirus (153). Las primeras series de casos que describieron una asociación entre la infección por SARS-CoV-2 y la EK fueron en Reino Unido, Italia y Francia (99–101). Posteriormente, se desarrolló la definición de MIS-C asociado a SARS-CoV-2 por el Royal College of Paediatrics and Child Health, el Centro de Prevención y Control de Enfermedades (CDC) y la Organización Mundial de la Salud (OMS). MIS-C comparte una serie de características clínicas y analíticas con la EK, la EKI y la EKS, incluyendo en la definición este perfil de pacientes cuando asocie vínculo epidemiológico o microbiológico con SARS-CoV-2.

En nuestro primer estudio, describimos una incidencia de EK superior a la esperada en un plazo muy breve (5 semanas) en Cataluña estando asociada la mitad de los casos a la infección por SARS-CoV-2, en línea con la experiencia comunicada por otros autores. Sorprendentemente, los casos de EK relacionados con el SARS-CoV-2 no se informaron en China, donde comenzó la pandemia y donde la incidencia de EK (40,9 a 55,1 por 100 000 niños < 5 años) es mayor que en los países europeos. Esto puede deberse a factores genéticos, inmunológicos o ambientales, o al desconocimiento debido al estrés que ha sufrido el sistema de salud en algunas regiones durante la pandemia (175). En comparación con la EK “clásica”, los casos de EK relacionados con el SARS-CoV-2 difieren en varias características clínicas: los pacientes son de mayor edad, presentan con mayor frecuencia síntomas respiratorios, gastrointestinales y neurológicos, y desarrollan una enfermedad más grave en términos de afectación cardiovascular (101,102) La incidencia de aneurismas coronarios en la EK sin tratamiento puede llegar a oscilar entre un 10-35%, mientras que si se realiza un

tratamiento rápido con IVIG y/o corticoides, este porcentaje desciende al 4% y el 6% (176) . En nuestra serie, 3/12 (25%) presentan aneurismas coronarios. No identificamos diferencia en los marcadores clínicos o de laboratorio para saber quién desarrollará dilatación de la arteria coronaria o aneurismas.

Otras conclusiones remarcables de este primer estudio en cuanto a las diferencias entre EK vinculada o no a SARS-CoV-2, es la presencia más frecuente de linfopenia y trombocitopenia, así como un aumento de la inflamación, también presentes en otras series de mayor número de pacientes (101,102) . Curiosamente, en nuestra serie se observaron diferencias significativas en estos valores de laboratorio entre pacientes con o sin infección confirmada por SARS-CoV-2. Si bien son preliminares, estas diferencias respaldan la hipótesis de que el SARS-CoV-2 desempeña un papel en la patogénesis de estos síndromes inflamatorios post-infecciosos. Nuestro estudio se suma a la evidencia reciente que describe una asociación entre la infección por SARS-CoV-2 y un síndrome inflamatorio multisistémico pediátrico que comparte una serie de características clínicas y analíticas con la EK en niños.

Como ya hemos comentado anteriormente, desde la primera descripción del Síndrome por parte de la RCPCH de Londres (29 de Abril 2020), existen cuatro definiciones del síndrome con criterios clínicos de inclusión diferentes en función del organismo sanitario que la define (RCPCH, WHO, CDC, CPS), que se describen en la **Figura 7** (página 46). La no uniformidad de los criterios en la práctica clínica dificulta la clasificación de los pacientes y la comparación de los resultados de los estudios publicados. De ahí la importancia de trasladar los resultados de las cohortes clínicas y promover un consenso diagnóstico entre especialidades.

Además, todas estas definiciones podrían ser susceptibles de ser modificadas según se vaya ampliando el conocimiento de esta entidad. Recientemente desde los CDC se han publicado nuevos criterios de clasificación del síndrome (177). Las nuevas características de la definición de caso de MIS-C según CSTE/CDC, comprenden requisitos más laxos en cuanto a los días de fiebre, inflamación sistémica, afectación de órganos y la identificación de cualquier resultado serológico positivo de SARS-CoV-

2. Cambios notables también incluyen dar valores numéricos a parámetros que se utilizaban para describir al síndrome como son la inflamación, afectación hematológica o afectación cardíaca (PCR > 30mg/L, < 150.000 plaquetas/mm³, <1.000 linfocitos/mm³). Finalmente, la nueva definición clasifica los casos en casos probados, probables o sospechosos y enfatiza la exclusión de otros diagnósticos, incluida la enfermedad de Kawasaki. De la misma forma, J. Newburguer y J. Burns, especialistas en la EK, han liderado y apoyado esta nueva definición de MIS-C (178).

Con el fin de disminuir la clasificación errónea de los casos de MIS-C, el grupo de trabajo se centró principalmente en distinguir el MIS-C de la COVID-19 grave, la EK y el síndrome de shock tóxico. Está bien documentado que la COVID-19 aguda grave tiene una superposición significativa con MIS-C, y se espera que eliminar la categoría respiratoria de la definición de caso de MIS-C reduzca la clasificación errónea de la COVID-19 grave como MIS-C.(179,180). Se desconoce cuántos niños hospitalizados con otras enfermedades febriles cumplirían con la nueva definición de MIS-C dada la seropositividad generalizada, la exposición a COVID-19, y características no específicas que se superponen con enfermedades infecciosas agudas y otras condiciones hiperinflamatorias. Como tal, no se pueden estimar la especificidad de la definición y las tasas de falsos positivos como herramienta en el mundo real de la práctica clínica.

Esta nueva definición de MIS-C de CSTE/CDC se desarrolló explícitamente para la vigilancia de MIS-C, no para el diagnóstico, y los autores de los CDC distinguen entre el uso de la definición con fines de notificación versus fines clínicos. Específicamente, enfatizan que los médicos deben utilizar todos los datos disponibles para considerar diagnósticos alternativos y determinar el tratamiento sobre la base del juicio clínico. Estamos de acuerdo en que el uso de la nueva definición de caso como instrumento clínico de forma aislada plantea desafíos importantes. En primer lugar, la nueva definición se desarrolló utilizando un conjunto de datos que incluía casos de MIS-C de etapas anteriores de la pandemia, cuando las variantes del SARS-CoV-2 tenían más probabilidades de causar MIS-C y enfermedades más graves, y muchos niños estaban menos expuestos a las enfermedades habituales de la infancia y menos niños habían sido vacunados y, por lo tanto, protegidos contra MIS-C. Además, la seropositividad en

la población pediátrica se ha generalizado debido a la diseminación de la infección y a la implementación de vacunas. Por lo tanto, es difícil interpretar si los resultados positivos de la serología están asociados con la enfermedad MIS-C, si no hay antecedentes de resultados positivos de la PCR del ARN del SARS-CoV-2 o de la prueba de antígeno en las 2 a 8 semanas anteriores. Sin embargo, los resultados negativos de las pruebas de antígeno, PCR y serología contra el SARS-CoV-2 probablemente excluyan un diagnóstico de MIS-C. Por último, si las nuevas variantes del SARS-CoV-2 continúan asociándose con MIS-C más leve (181), aumentará la superposición con otras enfermedades virales. En conjunto, estas consideraciones enfatizan la importancia del juicio clínico al considerar la amplia gama de diagnósticos alternativos que pueden hacerse pasar por MIS-C. En el ámbito experimental para ayudar al diagnóstico, están en estudio y expansión herramientas que utilizan aplicaciones de IA y bigdata(182), herramientas inmunológicas (estudio de expansión de células T o agotamiento de la mismas)(172), firmas de citoquinas específicas (115), estudios de expresión génica. En ausencia de estas herramientas en tiempo real y aplicables en la cabecera del enfermo, los médicos deberemos continuar utilizando nuestro criterio clínico, en colaboración con expertos en subespecialidades, para diagnosticar y tratar con precisión el MIS-C.

Queda por descubrir cómo todos estos factores (nueva definición, nuevos fenotipos clínicos y aparición de nuevas variantes) afectan al MIS-C en una era con un SARS-CoV-2 endémico que convive con niños “naive” a la infección junto con otros con inmunidad robusta (natural o adquirida por la vacunación).

8.2 Epidemiología del MIS-C y variabilidad de presentación a través de la pandemia

Las tasas de incidencia de MIS-C varían entre diferentes regiones geográficas. Se han notificado numerosos casos en Europa, América, África, el sur de Asia y el resto del mundo, mientras que existen pocos casos notificados en los países del este de Asia. Es probable que factores ambientales y determinantes sociales, además de los factores genéticos y antecedentes, contribuyen a esta distribución geográfica de la incidencia de MIS-C.

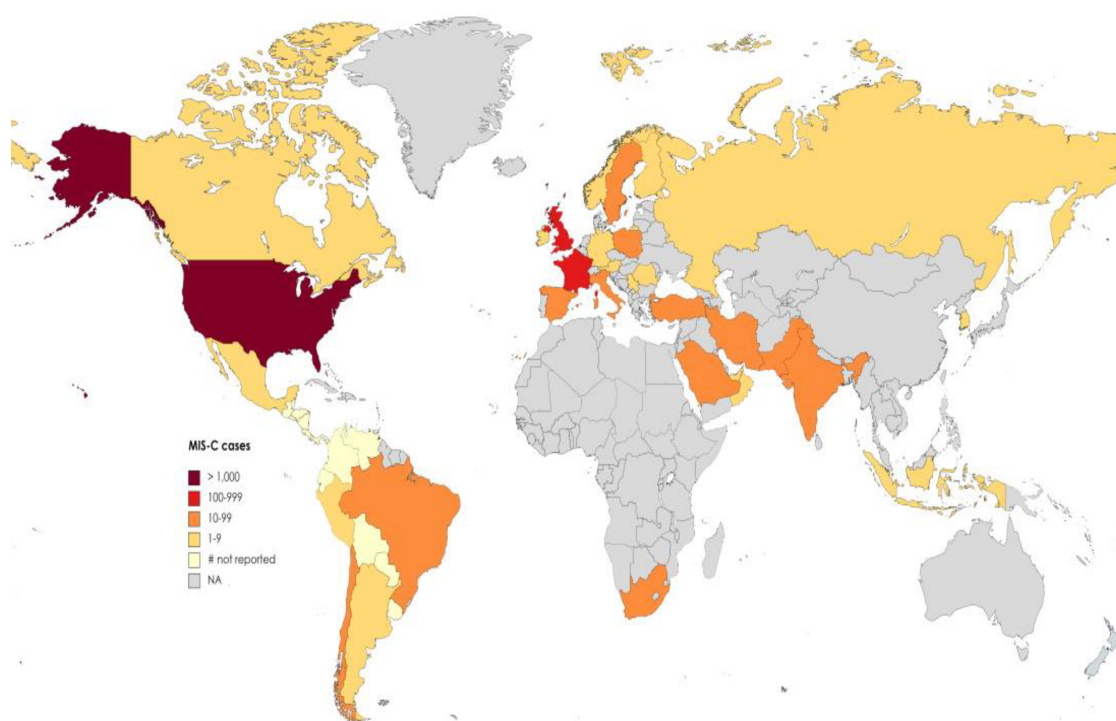


Figura 13. Mapa de casos de MIS-C, por país, según lo informado en estudios publicados actualizados hasta abril de 2021. Fuente: Castaldo P et al. Exploring Factors Influencing Changes in Incidence and Severity of Multisystem Inflammatory Syndrome in Children. *Pathogens*. 2023; 12(8):997. (183)

En el segundo artículo analizamos la tasa de incidencia de MIS-C entre las infecciones diagnosticadas por SARS-CoV-2. La proporción de MIS-C respecto al número de pacientes con diagnóstico de infección por SARS-CoV-2 variaría en función de diferentes factores. En primer lugar, analizamos los que consideramos más relevantes, y que podrían suponer un sesgo a la hora de interpretar los resultados.

- **Esfuerzo diagnóstico:** a principios de pandemia, existían escasas herramientas para diagnosticar esta nueva infección y, en consecuencia, identificar los pacientes infectados. Por lo tanto, los datos de los primeros meses serán incidencias afectadas por este aspecto (mayor tasa de MIS-C de lo esperable). Cabe destacar en nuestro medio, que los protocolos sostenidos de vigilancia en las escuelas, con evaluación de todos los compañeros de clase cada vez que se detectó un caso positivo, garantizó un esfuerzo diagnóstico sostenido entre la población pediátrica entre septiembre de 2020 y enero 2022 (184).
- **Esfuerzo de registro de infección/casos:** recordar que, durante la pandemia, existía una difícil situación personal nunca vivida por nuestra sociedad anteriormente, con lo que la incertidumbre, el miedo, los protocolos, las normas, eran cambiantes y dinámicas. Igualmente, el personal sanitario responsable de identificar, tratar y registrar estos casos sufría en modo personal y profesional todas estas situaciones, con lo que los registros podrían estar sesgados por estos factores.
- **Restricciones poblacionales de circulación:** sabemos que las políticas de restricción de movilidad, uso de mascarillas, generación de grupos burbuja, etc... influyen en la disminución de la probabilidad de infección del virus, con la consecuencia en que veremos una tasa inferior de infección y en consecuencia de MIS-C, pero con unas condiciones especiales. Estos factores probablemente influyan en la incidencia de la enfermedad, sobre todo, en el primer año de pandemia con restricciones de movilidad poblacional que nunca más veremos a lo largo de la pandemia.
- **Estado de vacunación/inmunidad previa:** La inmunidad propia o inducida por vacunas protege contra el MIS-C. Se ha demostrado que la vacunación protege contra MIS-C (185,186). Además, conforme avanza la pandemia, la seroprevalencia del anticuerpo SARS-CoV-2 por infección natural o por vacunación, va creciendo hasta alcanzar rápidamente valores de > 75%. Utilizar la presencia de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 como confirmación de una infección previa reciente puede conducir a un sobrediagnóstico de la enfermedad (187).

- **El virus y sus variantes:** Omicron se convirtió rápidamente en la variante circulante dominante en 2022, lo que suscitó una posible preocupación por el aumento de la incidencia del síndrome inflamatorio multisistémico. Sin embargo, la gravedad y la incidencia de MIS-C disminuyeron drásticamente durante la oleada Omicron en comparación con las oleadas Alpha y Delta. Múltiples parámetros pueden explicar esta disminución de la frecuencia de MIS-C, incluida la fuerte asociación entre la vacunación infantil (Pfizer-BioNTech) y la prevención de MIS-C, las infecciones previas por SARS-CoV-2 y la inducción de memoria inmunitaria, un mejor manejo y, potencialmente, mutaciones en la propia variante Omicron. De hecho, las mutaciones en SARS-CoV-2 Spike pueden explicar las diferencias de gravedad de la enfermedad entre las variantes. La altamente patógena Delta alberga una mutación de Spike, P681R, liberando mayores cantidades de la subunidad S1, que actuaría como SAg. Por otro lado, Omicron, relativamente menos patógeno, presenta varias mutaciones en Spike que le hacen menos sensibles a la unión con el receptor TMPRSS2, lo que le confiere menor contagiosidad y menores niveles de S1 circulante. Dado que la causa similar al SAg se encuentra en la subunidad S1 del SARS-CoV-2, estos hallazgos podrían apoyar la hipótesis de los SAg del MIS-C y pueden explicar la reducción significativa de la incidencia del MIS-C durante la oleada Omicron (188).
- **Susceptibilidad racial/socio-económica:** la incidencia del MIS-C fue mayor entre grupos raciales y étnicos de niños y adolescentes de raza negra no hispanos e hispanos o latinos. Esta desproporción de incidencias en función de la raza, ha sido reflejada y estudiada por diferentes autores. En algunos casos, se muestra esta diferencia de proporciones como consecuencia de nivel socio-económico más bajo en estas poblaciones y dificultades de acceso al sistema sanitario (189). Otros trabajos muestran el factor racial como independiente de factores socio-económicos, hipotetizando factores de capacidad de respuesta inmune propios de cada individuo, y en este caso, genéticamente predispuestos por la diferencia racial (92). Las enfermedades multifactoriales como las enfermedades coronarias, autoinmunes y el cáncer son muy frecuentes en las poblaciones mestizas y afroamericanas, pero están

prácticamente ausentes en los amerindios, análisis a nivel molecular de sus marcadores HLA podrían ayudar a dilucidar estas diferencias.

En el momento de la publicación, **este era el primer trabajo que estudiaba la incidencia de MIS-C en el sur de Europa**, con la capacidad de reclutar a todos los casos MIS-C en un área determinada, y analizar el riesgo relativo para desarrollar MIS-C entre las infecciones por SARS-CoV-2 en todos los periodos de la pandemia. Encontramos un RR más bajo de MISC respecto a infecciones por SARS-CoV-2 en el período ómicron para todos los grupos de edad, incluyendo aquellos que no han sido vacunados por edad. En general, diagnosticamos 152 casos de MIS-C entre 1.361.915 niños en Cataluña, con una incidencia mensual de MIS-C de 4,1 casos por 1.000.000 de personas (IC 95 %: 3,5–4,7). La incidencia fue significativamente menor en mujeres y adolescentes (12-17 años edad), incluso antes del inicio de la vacunación en este grupo de edad. Estos datos confirman que MIS-C es una complicación muy rara de la infección por SARS-CoV-2, aunque nuestra incidencia es superior a la reportada en Liguria (Italia, (190)), aunque parecida a la comunicada por Payne *et al.* en EE. UU. (90) y por Rhedin *et al.* en Suecia (191).

Ómicron mostró significativamente la tasa más baja de incidencia de MIS-C, en comparación con el alto número de niños infectados en todos los grupos de edad en ese período. Además, el esfuerzo de diagnóstico fue menor después de finales de enero de 2022 por la relajación en la vigilancia y cuarentena medidas en las escuelas, por lo que además la tasa de MIS-C durante el período ómicron puede que esté sobreestimada ya que el denominador podría ser mucho mayor que el informado. Esto implicaría un RR aún mayor en pre-ómicron de los que nosotros estimamos. Las hipótesis para explicar este cambio de tasa de MIS-C podrían incluir la propia variante ómicron (incluiría alguna mutación en alguna proteína que la hiciese menos reactógena), la respuesta inmunitaria del huésped (mejor eliminación viral secundaria a respuestas inmunitarias más fuertes durante la infección aguda por SARS-CoV-2) (192), alta prevalencia de Infección por SARS-CoV-2 entre la población general después de dos años de pandemia, o el alto porcentaje de personas que fueron vacunados completamente contra el SARS-CoV-2, entre otros factores desconocidos. En cuanto al factor variante, nuestros resultados están en concordancia con un estudio sudafricano

realizado durante el período ómicron (193), y con otro estudio realizado en el sudeste de Inglaterra (194) . Sin embargo, CDC encontró que los casos de MIS-C continuaron siendo una importante complicación de la infección por SARS-CoV-2 durante estos periodos (181).

Posteriormente a la publicación de nuestros resultados, existen otros estudios que en la línea publicaban datos de incidencia de MIS-C y riesgo de enfermedad, así como expresión fenotípica y de gravedad de presentación de la misma.

Levy N. *et al.* (195) publicaron en mayo del 2022, un estudio prospectivo donde se comparan los casos de MIS-C de 12 hospitales en Israel durante las tres olas de COVID-19, alpha (diciembre de 2020 a abril de 2021), delta (julio de 2021 a noviembre de 2021) y ómicron (noviembre 2021 a marzo 2022). Demuestran una reducción en la incidencia de MIS-C durante la ola de ómicron (las incidencias por 100.000 niños fueron 54,5 durante alpha, 49,2 durante Delta y 3,8 durante ómicron) y una menor gravedad de los casos de MIS-C. Estos resultados son similares a los encontrados por nuestro grupo en Cataluña.

Del mismo modo, Miller *et al.* (181) analizaron 5.670 casos de MIS-C observados entre julio de 2021 y enero de 2022 en Estados Unidos, dividiéndolos entre la tercera y cuarta ola de COVID - 19 y afirmando que la mayoría de los casos (95 %) registrados durante la cuarta ola fueron en cualquier caso por la variante Delta. Además, la gravedad de los casos de MIS-C informados durante la cuarta ola y la tasa de hospitalización fueron significativamente más bajas que durante la tercera ola.

En Italia, Bellini *et al.* (196) muestran un aumento estadísticamente significativo de la incidencia de MIS-C durante la ola de ómicron (diciembre de 2021 a marzo de 2022) a 106,2 casos por 100 000 visitas en urgencias ($p = 0,0001$), el doble del pico anterior de COVID-19 (54,9 casos por 100 000). Describieron únicamente la incidencia de MIS-C en su hospital durante la ola ómicron, sin mencionar la gravedad de la

enfermedad ni la tasa de hospitalización. Estos hallazgos, pero, estarían en total desacuerdo con lo encontrado por nuestro grupo y por Levy, Miller.

		Pre-delta	delta	ómicron
USA (90)	Payne et al.	16/100.000	7/100.000	3/100.000
Cataluña-España (89)	Pino R. et al.	92.6/100.000	53.8/100.000	8.2/100.000
Australia (197)	López L. et al.	1.3/100.000	0.5/100.000	0.08/100.000
Dinamarca (198)	Holm M. et al.	25/100.000	28/100.000	2/100.000
Alemania (199)	Sorg A.L. et al.	62/100.000	17/100.000	3/100.000
Israel (195)	Levy N. et al.	54.5/100.000	49.2/100.000	3.8/100.000
Inglaterra (194)	Cohen J.M et al.	231/100.000	79–102/100.000	12/100.000

Tabla 1: Proporción de casos con MIS-C entre infecciones por SARS-CoV-2 entre oleadas, en diferentes países. La incidencia varía dependiendo de la muestra elegida en los diferentes estudios. La incidencia no siempre representa la incidencia general en la población general. Fuente: elaboración propia, modificación de tabla publicada por Castaldo P. et al. (183).

Posibles hipótesis que justificarían diferencias de incidencia podrían corresponder a la propia variante del virus (predominante en diferentes áreas geográficas, y por consiguiente con diferente capacidad de producir la enfermedad inflamatoria). También la alta prevalencia de infección por SARS-CoV-2 en niños en Italia durante la ola ómicron podría justificar el aumento de casos de MIS-C en comparación con las oleadas anteriores. Sin embargo, la baja virulencia de la propia variante ómicron, una posible infección previa por SARS-COV-2 pero sobre todo la propagación de la vacunación COVID-19 en niños de 5 a 18 años podrían justificar una menor gravedad clínica del MIS-C en pediatría durante esta ola (aunque ese factor no ha sido analizado).

Nuestra comprensión actual de la inmunopatología de SARS-CoV-2 y MIS-C está creciendo, pero aún es limitada. La inmunogenicidad y la eficacia de la vacuna de ARNm COVID-19 está bien establecida en los adolescentes, y la prevención efecto de la vacunación sobre la incidencia de MIS-C también ha sido descrita en diferentes artículos (185,186). Una cohorte en Dinamarca demostró la eficacia de COVID-19 vacunación en la prevención de esta complicación durante el Período delta y ómicron (198). Por otro lado, existía el temor de que la vacunación pudiese desencadenar o

resultar ser el desencadenante de MIS-C en organismos predispuestos. A pesar de ese riesgo, se han informado muy pocos casos de MIS-C después de la vacunación por SARS-CoV-2 (200). En nuestro estudio, sólo ocho pacientes habían sido vacunados contra COVID-19 en el periodo de 12 semanas previas al episodio de MIS-C. Ninguno de los vacunados difería de los no vacunados con respecto a los factores de riesgo asociados para gravedad. Por otro lado, nuestro estudio incluye 49 niños vacunados contra la COVID-19, 37 con monodosis y 12 completamente vacunado, después del episodio MIS-C. Ninguno de ellos tuvo una recaída de MIS-C después de la vacunación. Estos datos también han sido publicados por Espalza C. *et al.* (201) por el grupo nacional (EPICO-AEP Working Group), en el que también participamos, con resultados similares en cuanto a seguridad, no documentando ningún caso de miocarditis en relación a la vacunación. Estos datos fueron de gran importancia en su momento, dada la tranquilidad que los clínicos podíamos ofrecer a la población, sobre todo a los grupos de riesgo susceptibles de ser vacunados.

La proporción de raza africana en la población MIS-C era de un 8.6%, en contraste con el porcentaje de estas personas que viven en Cataluña (1,3%) (202) Este hallazgo se correlaciona con anteriores artículos descritos en Europa (203) y EE.UU (90) sugiriendo una mayor susceptibilidad de esta población a presentar MIS-C después del COVID-19. En cuanto a las manifestaciones clínicas y hallazgos de laboratorio en nuestra cohorte, fueron similares a las series publicadas anteriormente. Tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas en estas características (clínicas y de laboratorio) en comparación con las diferentes olas de la pandemia, que corresponderías a diferentes variantes de SARS-CoV-2 (Tabla 2 y SI). No obstante, otros países sí encontraron diferencias en la presentación de MIS-C (Israel) donde se observó una disminución de la gravedad de MIS-C durante el período ómicron (195).

Nuestro estudio es el primero en comparar la presentación clínica y hallazgos de laboratorio a través de las diferentes variantes periodos y estado de vacunación en niños en Cataluña, España y Sur de Europa. Independientemente del período estudiado, los pacientes tenían fenotipos similares con respecto a gravedad y tipo de tratamiento. Estimamos una menor tasa de MIS-C por infección por SARS-CoV-2 para

todos los grupos de edad, incluidos los no vacunados, durante el período ómicron, lo que sugiere que la variante podría ser el factor principal para este cambio en la tendencia MIS-C.

Posteriormente, otros trabajos se han unido a esta línea de investigación para interpretar los cambios en los fenotipos de presentación y gravedad en relación con las diferentes variantes del virus. Moreno Rojas *et al.* (204) analizan de forma retrospectiva una cohorte de 104 pacientes MIS-C en San Diego entre las fechas Mayo 2020-Marzo 2022. Los investigadores identificaron cuatro oleadas distintas de MIS-C correspondientes a diferentes variantes de SARS-CoV-2 circulantes. La segunda ola tuvo varias variantes circulantes en San Diego: 20A a C, 20G, 21C (Épsilon), 20I (Alfa) y 20J (Gama), y que correspondía a pacientes que tenían una clínica más grave que los aparecidos en otras olas.

Study	San Diego, CA, USA	Cape Town, South Africa [9]	Israel [11]	Eastern India [10]	Poland [14]	Catalonia, Spain [13]	Washington DC, USA [7]	Houston, Texas, USA [8]	CDC data, USA [5,6]	Boston, MA, USA [12]
Dates										
Feb-20									Feb 19, 2020-Jun 28, 2020	
Mar-20									("Wave 1") (n=649)	Apr 1, 2020-Jul 27, 2021
Apr-20										("Alpha") (n=69)
May-20	May-Aug 2020	May 3, 2020-Aug 16, 2020				Apr-Dec 2020	Mar-Oct 2020	May-Feb 2021		
Jun-20	("Wave 1") (n=15)	("Ancestral") (n=49)		Jun 2020-Jan 2021		("Wuhan") (n=73)	("Wave 1") (n=43)	("Original and Alpha") (n=102)		
Jul-20				("Wave 1") (n=75)					Jun 29, 2020-Oct 17, 2020	
Aug-20									("Wave 2") (n=769)	
Sep-20	Sep 2020-Apr 2021									
Oct-20	("Wave 2") (n=57)								Oct 18, 2020-Jul 8, 2021	
Nov-20		Nov 8, 2020-Feb 7, 2021			Nov 1, 2020-Jul 30, 2021		Nov 2020-Apr 2021		("Wave 3") (n=3554)	
Dec-20		("Beta") (n=21)	Dec 20, 2020-Apr 10, 2021		("Original / Alpha") (n=74)					
Jan-21			("Alpha") (n=59)			Jan-Jul 2021				
Feb-21						("Alpha") (n=5)				
Mar-21										
Apr-21				Apr-Jul 2021						
May-21				("Delta") (n=48)						
Jun-21	May 2021-Dec 2022	May 23, 2021-Sep 19, 2021								
Jul-21	("Wave 3") (n=20)	("Delta") (n=43)	Jul 18, 2021-Nov 13, 2021			Jul-Dec 2021			Jul 9, 2021-Jan 31, 2022	Jul 28 2021-Jan 16, 2022
Aug-21			("Delta") (n=79)			("Delta") (n=44)		Aug-Nov 2021	("Wave 4") (n=2116)	("Delta") (n=16)
Sep-21										
Oct-21										
Nov-21		Nov 8, 2021-Jan 30, 2022			Oct 19, 2021-Jun 30, 2022					
Dec-21		("Omicron") (n=16)	Nov 21, 2021-Mar 12, 2021		("Delta / Omicron") (n=34)	Dec 2021-Feb 2022				Jan 17, 2022-Jul 8, 2022
Jan-22	Jan-Mar 2022		("Omicron") (n=33)			("Omicron") (n=30)				("Omicron") (n=23)
Feb-22	("Wave 4") (n=17)									
Mar-22										

Tabla 2: Comparación de MIS-C en las diferentes olas epidémicas de SARS-CoV-2. **Fuente:** Moreno Rojas AF, Bainto E, Harvey H, Tremoulet AH, Burns JC, Dummer KB. SARS-CoV-2 variants are associated with different clinical courses in children with MIS-C. World J Pediatr. 2022.

En su artículo también realiza una revisión sistemática hasta la fecha de artículos relacionados, en el que incluye el nuestro, que muestran también una disminución en la incidencia de MIS-C, y en algunos estudios incluso de la gravedad. También se ha observado un cambio hacia una distribución por edades más jóvenes, entre los niños en el Reino Unido con MIS-C. (172,173,183).

Todos estos estudios contribuyen a la comprensión de MIS-C en relación con las variantes de SARS-CoV-2 y subraya la importancia de monitorear el impacto de las mutaciones virales en la gravedad de la enfermedad. Informan de una menor incidencia del síndrome inflamatorio multisistémico en niños infectados por nuevas variantes del SARS-CoV-2 coincidiendo con campañas de vacunación. Los hallazgos proporcionan información muy valiosa para los médicos y las autoridades de salud pública en la gestión y predicción del curso clínico de MIS-C en poblaciones pediátricas.

Las limitaciones de este tipo de estudios incluyen su naturaleza retrospectiva, la dependencia y variabilidad de registros médicos electrónicos en diferentes partes del mundo, el tamaño de muestra relativamente pequeño en algunas de las oleadas, la importancia y dificultad de las fechas en relación con la variante predominante y la variabilidad de estudios y control epidemiológico de cada región. Sin embargo, a pesar de todas estas limitaciones, se objetiva una potencial influencia de las variantes de SARS-CoV-2 en la gravedad de MIS-C, abriendo el camino para investigaciones futuras sobre los mecanismos subyacentes y las implicaciones para el manejo clínico.

Como conclusión, según hemos ido explicando y documentando, parece que la variabilidad del virus interviene directamente en la forma de presentación clínica y en la gravedad del MIS-C. Su frecuencia y manifestaciones clínicas parecen haber cambiado en las sucesivas olas epidémicas de SARS-CoV-2, haciéndose más leve y menos frecuente. Las razones de estas tendencias no se comprenden del todo, pero pueden estar relacionadas con mutaciones virales, aumento de la inmunidad del huésped (ya sea natural o inducida por la vacuna) y otros cambios poblacionales que se daban en el mismo espacio de tiempo.

8.3 Hipótesis etiopatogénica. Inmunología de MIS-C y perfil de citoquinas

Los estudios de inmunofenotipado han revelado que la disregulación inmunitaria, la tormenta de citoquinas y el aumento de la activación de las células inmunitarias son características distintivas del MIS-C, y se correlacionan con la gravedad de la enfermedad (115). En particular, las citoquinas elevadas incluyen IL-6, IL-10, TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-1RA y CD25 soluble. Aunque la EK aguda también se asocia a niveles elevados de IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , IL-10 e IL-8 (205). Las concentraciones de estas citoquinas parecen más elevadas en el MIS-C (161). La IL-1 β desempeña un papel crucial en el desarrollo de la EK. Actualmente se están realizando ensayos clínicos para probar la eficacia de la anakinra, un antagonista del receptor de la IL-1 (IL-1Ra), en pacientes con EK refractaria al tratamiento con IGIV (206), en el que nuestro grupo de investigación está participando. Los niveles plasmáticos de IL-17A y las proporciones de células T Th17 circulantes aumentan durante la EK aguda y pueden estar implicados en la patogénesis de la EK (207). La IL-17A también está elevada en el MIS-C, aunque en menor grado que en la EK (106).

En base a este escenario, diseñamos un estudio con base a las siguientes hipótesis:

- 1) los perfiles de citoquinas inmunes observados en MIS-C y EK pre-pandémica pueden diferir y podrían explicar sus diferentes patrones clínicos.
- 2) Los inmunocomplejos (IC) específicos del SARS-CoV-2 pueden explicar la inmunopatología del MIS-C.

En este estudio, evaluamos la presencia de IgG, IgA e IgM específicas del SARS-CoV-2 circulantes en pacientes con MIS-C. 8/14 tenían IgG específica, de los cuales 6 también fueron positivos para IgA y ninguno para IgM (Figura 1), de acuerdo con los reportes publicados (47,87). El perfil de citoquinas se realizó en muestras de suero o plasma antes del tratamiento inmunomodulador (excepto en 2 pacientes). En comparación con controles sanos, los grupos MIS-C y EK mostraron niveles significativamente más altos de la mayoría de las citoquinas. De estos, las citoquinas relacionadas con IFN- γ (IL-18, IFN- γ , IL-10) y las relacionadas con monocitos inflamatorios (MCP-1, MIP1- β , IL-1 α , IL-1RA) fueron los principales desencadenantes

de la inflamación. Nuestros hallazgos sugieren un papel importante de IFN- γ en la patogénesis de MIS-C, que puede ser relevante para el manejo terapéutico.

Ya se ha descrito y comentado el aumento de marcadores inflamatorios en monocitos de pacientes con MIS-C. Recientemente publicados, otros estudios han evaluado el perfil de citoquinas de pacientes con MIS-C y pacientes con KD. Todos los informes coinciden con un aumento de citoquinas inflamatorias en pacientes MIS-C en comparación con CS y otros pacientes pediátricos con COVID que incluyen IFN- γ , IL-10, IL-6, IL-8, CXCL10, CCL4, CCL3 e IL-17, de manera similar a nuestras observaciones. (47,106,163,208).

El estudio de Consiglio *et al.* (106) comparó pacientes con MIS-C de Italia y Suecia con pacientes con KD italianos antes de la pandemia. Mostraron un aumento especialmente alto de IL-17 en pacientes con KD en comparación a pacientes con CS y COVID, no observado en pacientes con MIS-C. Nosotros y otros (47,163) hemos demostrado un marcado aumento de los niveles circulantes de IL-17 en pacientes con MIS-C.

Por otro lado, a principios de la pandemia, en Julio del 2020, Su H *et al.* (120) publicaron un artículo que recogía los resultados de estudios anatomopatológicos realizados a 26 pacientes fallecidos por COVID-19. La causa del fallecimiento de estos pacientes fue insuficiencia respiratoria y fallo multiorgánico. Se encontraron 9 pacientes con elevación de creatinina y proteinuria asociada pre-mortem. En estos, al observar el riñón se objetivaron cambios anatomopatológicos que consistían en agregados eritrocíticos que obstruían el lumen. No se hallaron datos de vasculitis, inflamación intersticial o hemorragia. A través de microscopía electrónica, se observaron clústeres de virus en el epitelio tubular. ACE2 receptor y Ac-SARS-CoV-2 fueron positivos en el epitelio tubular, objetivando la presencia de depósitos de inmunocomplejos a este nivel. A raíz de estos hallazgos, realizamos el estudio en nuestros pacientes, pero no conseguimos detectar ARN de SARS-CoV-2 circulante ni IC de SARS-CoV-2. Aunque los IC pueden no ser parte de la patogénesis de MIS-C, estos

resultados no descartan un posible papel de los IC en la inmunopatogénesis de MIS-C. Esto podría explicarse por dos posibles hipótesis:

1) es posible que ya se hayan depositado en el endotelio o en otros órganos y, por lo tanto, no sean detectables en suero/plasma.

2) la patogenia puede estar mediada por una infección directa del endotelio vascular y su producto no sea circulante. Se han observado IC en tejido vascular de pacientes con infección por SARS-CoV-2 con vasculitis (209). Además, se ha descrito la presencia de ARN del SARS-CoV-2 circulante no infeccioso; la falta de infectividad puede explicarse por la presencia de viriones acomplexados con anticuerpos neutralizantes (210). Se han observado partículas virales de SARS-CoV-2 dentro del endotelio en pacientes pediátricos con sabañones relacionados con el SARS-CoV-2 (211). La dificultad de obtener biopsias de tejido vascular u otros tejidos sobre todo en niños, limita la exploración adicional de estas hipótesis.

LIMITACIONES

Los estudios que conforman esta tesis tienen varias limitaciones. Ya hemos comentado que, en los estudios de incidencia, los datos de infección estaban supeditados a varios factores que podían hacer subestimar o sobreestimar la enfermedad (recogida de datos, esfuerzo diagnóstico, medidas de aislamiento y distanciamiento social cambiantes, programas de vacunación no obligatorios y diferentes en función de las edades, mutaciones del propio virus, etc...). Además, los fenotipos clínicos de MIS-C y su gravedad han sido relacionados con las variantes circulantes bajo una asociación de probabilidad, no de causalidad directa, ya que no hemos podido conocer de forma directa la variante responsable de cada caso de MIS-C, sino que el criterio era “epidemiológico” (cuando en la población circulaba > 50% de la variante predominante). Este sesgo, probablemente, habrá hecho clasificar a pacientes MIS-C en olas de ómicron, sin conocer exactamente si esta variante es la responsable final de cuadro MIS-C (ya que, en estos pacientes, por su condición inflamatoria pos-infecciosa, el virus circulante ya no es posible detectarlo). Es un sesgo común a todos los artículos publicados en relación al tema.

El tercer artículo es unicéntrico, y el tamaño muestral es pequeño debido a su carácter unicéntrico y a la baja incidencia del síndrome en nuestro medio. Aunque esto mismo le confiere la fortaleza de la caracterización clínica y la selección individualizada de los pacientes, dato que ayuda a homogeneizar la muestra y los criterios clínicos de inclusión.

FORTALEZAS

A través del discurso longitudinal y la mirada transversal de los resultados de los estudios de esta tesis, se ha podido profundizar en la presentación clínica y sus variables epidemiológicas de pacientes con diagnóstico de MIS-C a través de los diferentes años de la pandemia. El carácter multicéntrico de un territorio concreto (Cataluña y España) y su trabajo colaborativo permite realizar una fotografía de la enfermedad en todo el territorio con un tamaño muestral importante. Además, la colaboración entre la asistencia primaria y hospitalaria, han sido claves para obtener datos robustos para calcular datos de incidencia y prevalencia poblacional, información importantísima para conocer la evolución del impacto de la pandemia en la población infantil.

APLICABILIDAD Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

Hemos podido objetivar que la enfermedad inflamatoria post-infecciosa no ha tenido una presentación constante a lo largo de la pandemia, sino que se ha ido modificando en cuanto a su presentación en los diferentes rangos de edad, diferencias de proporción de afectación de órganos (miocarditis, afectación cutánea, ocular, hematológica, etc..) y diferente porcentaje de incidencia con relación a las variantes que predominaban en cada periodo epidémico. Esta situación dinámica epidemiológica y clínica se ha presentado en nuestro territorio, pero también se ha demostrado en otros países que han estudiado estos mismos aspectos. El poder ofrecer datos poblacionales de incidencia permite establecer un punto de partida que ayuda a delimitar el alcance de la enfermedad, así como analizar los factores que la hacen incrementar o desaparecer, y poder comparar los datos con otras poblaciones/regiones.

En cuanto a las posibilidades de etiopatogenia que ofrece el resumen de artículos anteriormente expuestos, quedan todavía muchas incógnitas que ayude a delinear y establecer las bases fisiopatológicas de este nuevo síndrome. De hecho, del Dr. Tomisaku Kawasaki, quién definió la Enfermedad de Kawasaki, falleció en junio del 2020, sin poder conocer cuáles son las bases etiopatogénicas de la enfermedad que él mismo describió en 1965.

Es de esperar, que con el cambio de variante menos patógena y con menos capacidad de activar MIS-C, junto con la prevalencia elevada de anticuerpos protectores SARS-CoV-2 y la vacunación de la población tanto adulta como pediátrica, esta enfermedad post-inflamatoria conocida como MIS-C vaya disminuyendo en incidencia e incluso desaparezca o se mimetice aún más con su homóloga EK, y sean indistinguibles.

Queda por descubrir cómo todos estos factores (nueva definición, nuevos fenotipos clínicos y aparición de nuevas variantes) afectan al MIS-C en una era con un SARS-CoV-2 endémico que convive con niños “naive” a la infección junto con otros con inmunidad robusta (natural o adquirida por la vacunación).

Como vemos, la discusión de su reconocimiento y la dificultad en su clasificación no han sido sólo un hecho aislado del propio clínico en la cabecera del enfermo, sino que se ha elevado a otras esferas más complejas. Es importante reconocer que casi 4 años después de que los primeros casos fueron descritos, tenemos una comprensión parcial de la epidemiología, patogénesis, diagnóstico y de los tratamientos precisos de este síndrome. De un modo u otro, la única manera de entender qué es lo que ha pasado, está pasando y pasará es seguir estudiando y analizando. Y para ello es necesario de ayudas tanto económicas como personales que impliquen a políticos, profesionales, pacientes y familias.

CONCLUSIONES

9 CONCLUSIONES:

Las conclusiones se han relacionado con los objetivos planteados.

En relación con el objetivo 1: conocer las variables clínicas y epidemiológicas de los pacientes diagnosticados de síndrome inflamatorio multisistémico vinculado a SARS-CoV-2 en nuestro entorno. Concluimos:

1.1 El síndrome inflamatorio multisistémico pediátrico asociado a infección por SARS-CoV-2 se expresa como una **enfermedad inflamatoria post-infecciosa vinculada temporalmente a SARS-CoV-2, bajo una variedad de síntomas y signos característicos de esta condición.**

1.2 Los casos de **enfermedad de Kawasaki relacionados con el virus SARS-CoV-2 presentan algunas características clínicas diferentes de la enfermedad de Kawasaki "clásica":** los pacientes son de mayor edad, tienen una mayor frecuencia de síntomas respiratorios, gastrointestinales y neurológicos, desarrollan una enfermedad más grave en términos de afectación cardiovascular, tienen recuentos estadísticamente significativos más bajos de linfocitos y plaquetas, y niveles más altos de marcadores inflamatorios (PCR, PCT y ferritina) y NT Pro-BNP en el momento del diagnóstico.

En relación al objetivo 2: estimar la incidencia de síndrome inflamatorio multisistémico vinculado a SARS-CoV-2, en relación con datos de infección por SARS-CoV-2 en Cataluña, concluimos que:

2.1 A nivel epidemiológico, éste es el primer estudio poblacional sobre incidencia de síndrome inflamatorio multisistémico vinculado a SARS-CoV-2 en Cataluña y en el territorio español. Nuestro estudio ha revelado una **incidencia mensual de síndrome inflamatorio multisistémico vinculado a SARS-CoV-2 de 4,1 (IC 95 %: 3,4–4,8) por 1.000.000 de personas y 273 (IC 95 %: 230–316) por 1.000.000 de infecciones por SARS-CoV-2.**

2.2 Hemos visto diferencias entre incidencias de síndrome inflamatorio multisistémico vinculado a SARS-CoV-2, según la variante predominante en la pandemia.

2.3 La proporción de casos con síndrome inflamatorio multisistémico vinculado a SARS-CoV-2 e infecciones por SARS-CoV-2 fue significativamente menor en el período ómicron para todos los grupos de edad, incluidos los no vacunados.

2.4 Esto sugiere que el tipo de variante de SARS-CoV-2 podría ser un factor independiente responsable en la presentación del síndrome inflamatorio multisistémico vinculado a SARS-CoV-2.

2.5 La variabilidad del virus también interviene directamente en la forma de presentación clínica y en la gravedad del síndrome inflamatorio multisistémico vinculado a SARS-CoV-2. Su frecuencia y manifestaciones clínicas parecen haber cambiado en las sucesivas olas epidémicas de SARS-CoV-2, haciéndose más leve y menos frecuente. En nuestro trabajo, independientemente del tipo de variante, **los pacientes tenían fenotipos y gravedad similares durante la pandemia.**

2.6 Las razones de estas tendencias no se comprenden del todo, pero pueden estar relacionadas con mutaciones virales, aumento de la inmunidad del huésped (ya sea natural o inducida por la vacuna) y otros cambios poblacionales que se daban en el mismo espacio de tiempo.

En relación con el objetivo 3: identificar el patrón de generación de interleucinas en los pacientes con síndrome inflamatorio multisistémico vinculado a SARS-CoV-2, las conclusiones son:

3.1 A nivel inmunológico, **los perfiles de citoquinas inmunes observados en síndrome inflamatorio multisistémico vinculado a SARS-CoV-2 y enfermedad de Kawasaki fueron más altos** y diferentes en comparación con el grupo **enfermedad de Kawasaki pre-pandemia y los controles sanos**.

3.2 Nuestros hallazgos sugieren un **papel importante de IFN- γ** en la patogénesis de síndrome inflamatorio multisistémico vinculado a SARS-CoV-2, que puede ser relevante para entender a la enfermedad y el manejo terapéutico.

3.3 **No pudimos detectar la presencia de inmunocomplejos de SARS-CoV-2 circulante** en pacientes con síndrome inflamatorio multisistémico vinculado a SARS-CoV-2.

BIBLIOGRAFÍA

10 BIBLIOGRAFÍA

1. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020 Feb 20;382(8):727–33.
2. Wei M, Yuan J, Liu Y, Fu T, Yu X, Zhang ZJ. Novel coronavirus infection in hospitalized infants under 1 year of age in China. *JAMA*. 2020 Apr 7;323(13):1313–4.
3. Gandhi RT, Lynch JB, del Rio C. Mild or moderate Covid-19. *N Engl J Med*. 2020;383(18):1757-1766.
4. Guo YR, Cao QD, Hong ZS, Tan YY, Chen SD, Jin HJ, et al. The origin, transmission, and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak - an update on the status. *Mil Med Res*. 2020 Mar 13;7(1):11.
5. World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-2019) situation reports [Internet]. 2020 [citado 2020 Mar 2; acceso 2020 May 28]. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/multisystem-inflammatory-syndrome-in-children-and-adolescents-with-covid-19>.
6. Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol*. 2020 Apr;92(4):418–23.
7. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol*. 2020 Apr;5(4):536–44.
8. Renu K, Prasanna PL, Valsala Gopalakrishnan A. Coronaviruses pathogenesis, comorbidities and multi-organ damage – A review. *Life Sci*. 2020 Aug;255:117839.
9. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol*. 2019 Mar 1;17(3):181–92.
10. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiología médica. 8va ed. Barcelona: Elsevier; 2017. p. 506-511.
11. Vellingiri B, Jayaramayya K, Iyer M, Narayanasamy A, Govindasamy V, Giridharan B, et al. COVID-19: A promising cure for the global panic. *Sci Total Environ*. 2020 Jul;725:138277.
12. Papanikolaou V, Chrysovergis A, Ragos V, Tsiambas E, Katsinis S, Manoli A, et al. From delta to Omicron: S1-RBD/S2 mutation/deletion equilibrium in SARS-CoV-2 defined variants. *Gene*. 2022 Mar 10;814:146134.
13. Elbe S, Buckland-Merrett G. Data, disease and diplomacy: GISAID's innovative contribution to global health. *Glob Chall*. 2017 Jan;1(1):33–46.

14. hCoV-19 clades. GISAID. [consultado el 24 de diciembre de 2021]. Disponible en: <https://www.gisaid.org>.
15. Rambaut A, Holmes EC, O'Toole Á, Hill V, McCrone JT, Ruis C, et al. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. *Nat Microbiol*. 2020 Jul 15;5(11):1403–7.
16. World Health Organization. Historical working definitions and primary actions for SARS-CoV-2 variants [Internet]. 2023 [citado 2023 Jan 17]. Disponible en: <https://www.who.int/publications/m/item/historical-working-definitions-and-primary-actions-for-sars-cov-2-variants>.
17. World Health Organization. Tracking SARS-CoV-2 variants [Internet]. World Health Organization. 2023 [citado 2023 Apr 13]. Disponible en: <https://bit.ly/3KiOE5I>.
18. Korber B, Fischer WM, Gnanakaran S, Yoon H, Theiler J, Abfalterer W, et al. Tracking changes in SARS-CoV-2 spike: Evidence that D614G increases infectivity of the COVID-19 virus. *Cell*. 2020 Aug;182(4):812–827.e19.
19. Thomson EC, Rosen LE, Shepherd JG, Spreafico R, da Silva Filipe A, Wojcechowskyj JA, et al. Circulating SARS-CoV-2 spike N439K variants maintain fitness while evading antibody-mediated immunity. *Cell*. 2021 Mar;184(5):1171–1187.e20.
20. Dyson L, Hill EM, Moore S, Curran-Sebastian J, Tildesley MJ, Lythgoe KA, et al. Possible future waves of SARS-CoV-2 infection generated by variants of concern with a range of characteristics. *Nat Commun* 2021 Sep 30;12(1):5730.
21. Relan P, Motaze NV, Kothari K, Askie L, Le Polain de Waroux O, Van Kerkhove MD, et al. Severity and outcomes of Omicron variant of SARS-CoV-2 compared to Delta variant and severity of Omicron sublineages: a systematic review and metanalysis. *BMJ Glob Health*. 2023 Jul;8(7):e012328.
22. Bouzid D, Visseaux B, Kassasseya C, Daoud A, Fémy F, Hermand C, et al. Comparison of patients infected with Delta versus Omicron COVID-19 variants presenting to Paris emergency departments. *Ann Intern Med*. 2022 Jun;175(6):831–7.
23. Sumner MW, Xie J, Zemek R, Winston K, Freire G, Burstein B, et al. Comparison of symptoms associated with SARS-CoV-2 variants among children in Canada. *JAMA Netw Open*. 2023 Mar 1;6(3):e232328.
24. Yang H, Rao Z. Structural biology of SARS-CoV-2 and implications for therapeutic development. *Nat Rev Microbiol*. 2021 Nov 17;19(11):685–700.
25. Ong SWX, Tan YK, Chia PY, Lee TH, Ng OT, Wong MSY, et al. Air, surface environmental, and personal protective equipment contamination by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) from a symptomatic patient. *JAMA*. 2020 Apr 28;323(16):1610–1612.

26. van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, et al. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med* [Internet]. 2020 Apr 16;382(16):1564–7.
27. Yeo C, Kaushal S, Yeo D. Enteric involvement of coronaviruses: is faecal-oral transmission of SARS-CoV-2 possible? *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020 Apr 1;5(4):335–7.
28. Greenberg SB. Respiratory viral infections: Update on human rhinovirus and coronavirus infections. *Semin Respir Crit Care Med*. 2016 Aug 1;37(4):555–71.
29. Actualización no 605 a 7 de Junio del 2022. Disponible en: https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/Actualizacion_605_COVID-19.pdf
30. Actualización no 598. Enfermedad por el coronavirus (COVID-19). 13.05.2022 [Internet]. [citado 2024 Sep 28]. Disponible en: https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/Actualizacion_598_COVID-19.pdf
31. Estudio nacional de sero-epidemiología de la infección por SARS-CoV-2. Informe final julio 2020. Disponible en: https://portalcne.isciii.es/enecovid19/informes/informe_final.pdf
32. Posfay-Barbe KM, Andrey DO, Virzi J, Cohen P, Pigny F, Goncalves AR, et al. Prevalence of immunoglobulin G (IgG) against severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and evaluation of a rapid MEDsan IgG test in children seeking medical care. *Clin Infect Dis*. 2021 Apr 8;72(7)–5.
33. Coopersmith CM, Antonelli M, Bauer SR, Deutschman CS, Evans LE, Ferrer R, et al. The Surviving Sepsis Campaign: Research priorities for coronavirus disease 2019 in critical illness. *Crit Care Med*. 2021 Apr 1; 49(4):598–622.
34. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020 Mar;395(10229):1054–62.
35. Götzinger F, Santiago-García B, Noguera-Julián A, Lanaspá M, Lancella L, Calò Carducci FI, et al. COVID-19 in children and adolescents in Europe: A multinational, multicenter cohort study. *Lancet Child Adolesc Health*. 2020 Sep;4(9):653–61.
36. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China. *JAMA*. 2020 Apr 7;323(13):1239.

37. Zimmermann P, Curtis N. Why does the severity of COVID-19 differ with age?: Understanding the mechanisms underlying the age gradient in outcome following SARS-CoV-2 infection. *Pediatr Infect Dis J*. 2022 Feb 1;41(2):45.
38. Hoang A, Chorath K, Moreira A, Evans M, Burmeister-Morton F, Burmeister F, et al. COVID-19 in 7780 pediatric patients: A systematic review. *EClinicalMedicine*. 2020 Jun 26;24:100433.
39. Zhang L, Peres TG, Silva MVF, Camargos P. What we know so far about Coronavirus Disease 2019 in children: A meta-analysis of 551 laboratory-confirmed cases. *Pediatr Pulmonol*. 2020 Aug 1 [citado 2023 May 16];55(8):2115–27.
40. Rothan HA, Byrareddy SN. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *J Autoimmun*. 2020 May;109:102433.
41. Simon AK, Hollander GA, McMichael A. Evolution of the immune system in humans from infancy to old age. *Proc Biol Sci*. 2015 Dec 22;282(1821):20143085.
42. Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry PA, Ng LFP. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol*. 2020 Jun;20(6):363–74.
43. Sanz JM, Gómez Lahoz AM, Martín RO. [Role of the immune system in SARS-CoV-2 infection: immunopathology of COVID-19]. *Medicine*. 2021 May;13(33):1917–31.
44. Russell MW, Moldoveanu Z, Ogra PL, Mestecky J. Mucosal immunity in COVID-19: A neglected but critical aspect of SARS-CoV-2 infection. *Front Immunol*. 2020 Nov 30;11:611337.
45. Zohar T, Alter G. Dissecting antibody-mediated protection against SARS-CoV-2. *Nat Rev Immunol*. 2020 Jul 8;20(7):392–4.
46. Cervia C, Nilsson J, Zurbuchen Y, Valaperti A, Schreiner J, Wolfensberger A, et al. Systemic and mucosal antibody responses specific to SARS-CoV-2 during mild versus severe COVID-19. *J Allergy Clin Immunol*. 2021 Feb;147(2):545–57.e9.
47. Vabret N, Britton GJ, Gruber C, Hegde S, Kim J, Kuksin M, et al. Immunology of COVID-19: Current state of the science. *Immunity*. 2020 Jun 16;52(6):910–41.
48. Filippatos F, Tatsi EB, Michos A. Immune response to SARS-CoV-2 in children: A review of the current knowledge. *Pediatr Investig*. 2021 Sep;5(3):217–28.
49. Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X, Su Y, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis*. 2020 Oct 15;71(16):2027–34.

50. Qu J, Wu C, Li X, Zhang G, Jiang Z, Li X, et al. Profile of immunoglobulin G and IgM antibodies against severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clin Infect Dis*. 2020 Oct 15;71(16):2255–8.
51. Gudbjartsson DF, Norddahl GL, Melsted P, Gunnarsdottir K, Holm H, Eythorsson E, et al. Humoral immune response to SARS-CoV-2 in Iceland. *N Engl J Med*. 2020 Oct 29;383(18):1724–34.
52. Krammer F. A correlate of protection for SARS-CoV-2 vaccines is urgently needed. *Nat Med*. 2021 Jul 8;27(7):1147–8.
53. Khoury DS, Cromer D, Reynaldi A, Schlub TE, Wheatley AK, Juno JA, et al. Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nat Med*. 2021 Jul;27(7):1205–11.
54. Earle KA, Ambrosino DM, Fiore-Gartland A, Goldblatt D, Gilbert PB, Siber GR, et al. Evidence for antibody as a protective correlate for COVID-19 vaccines. *Vaccine*. 2021 Jul 22;39(32):4423–8.
55. Long QX, Liu BZ, Deng HJ, Wu GC, Deng K, Chen YK, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nat Med*. 2020 Jun 1;26(6):845–8.
56. Wajnberg A, Amanat F, Firpo A, Altman DR, Bailey MJ, Mansour M, et al. Robust neutralizing antibodies to SARS-CoV-2 infection persist for months. *Science (1979)*. 2020 Dec 4;370(6521):1227–30.
57. Dan JM, Mateus J, Kato Y, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science*. 2021. Feb 5;371(6529):eabf4063.
58. Ibarondo FJ, Fulcher JA, Goodman-Meza D, Elliott J, Hofmann C, Hausner MA, et al. Rapid decay of anti-SARS-CoV-2 antibodies in persons with mild Covid-19. *N Engl J Med*. 2020 Sep 10;383(11):1085–7.
59. Rodda LB, Netland J, Shehata L, Pruner KB, Morawski PA, Thouvenel CD, et al. Functional SARS-CoV-2-specific immune memory persists after mild COVID-19. *Cell*. 2021 Jan 7;184(1):169–83.e17.
60. Toh ZQ, Anderson J, Mazarakis N, Neeland M, Higgins RA, Rautenbacher K, et al. Comparison of seroconversion in children and adults with mild COVID-19. *JAMA Netw Open*. 2022 Mar 9;5(3): e221313.
61. Greaney AJ, Loes AN, Crawford KHD, Starr TN, Malone KD, Chu HY, et al. Comprehensive mapping of mutations in the SARS-CoV-2 receptor-binding domain that affect recognition by polyclonal human plasma antibodies. *Cell Host Microbe*. 2021 Mar;29(3):463–76.e6.

62. Yang W, Shaman J. COVID-19 pandemic dynamics in South Africa and epidemiological characteristics of three variants of concern (Beta, Delta, and Omicron). *Elife*. 2022 Aug 9;11:e78933.
63. Liu P, Cai J, Jia R, Xia S, Wang X, Cao L, et al. Dynamic surveillance of SARS-CoV-2 shedding and neutralizing antibody in children with COVID-19. *Emerg Microbes Infect*. 2020 Dec;9(1):1254–8.
64. Huang AT, Garcia-Carreras B, Hitchings MDT, Yang B, Katzelnick LC, Rattigan SM, et al. A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: kinetics, correlates of protection, and association with severity. *Nat Commun*. 2020 Sep 17;11(1):4704.
65. Sun B, Feng Y, Mo X, Zheng P, Wang Q, Li P, et al. Kinetics of SARS-CoV-2 specific IgM and IgG responses in COVID-19 patients. *Emerg Microbes Infect*. 2020 Dec;9(1):940–8.
66. Yates JL, Ehrbar DJ, Hunt DT, Girardin RC, Dupuis AP, Payne AF, et al. Serological analysis reveals an imbalanced IgG subclass composition associated with COVID-19 disease severity. *Cell Rep Med*. 2021 Jul 20;2(7):100329.
67. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, Mateus J, Dan JM, Moderbacher CR, et al. Targets of T cell responses to SARS-CoV-2 coronavirus in humans with COVID-19 disease and unexposed individuals. *Cell*. 2020 Jun 25;181(7):1489–1501.e15.
68. Braun J, Loyal L, Frentsch M, Wendisch D, Georg P, Kurth F, et al. SARS-CoV-2-reactive T cells in healthy donors and patients with COVID-19. *Nature*. 2020 Nov;587(7833):270–4.
69. Owen JA, Punt J, Stranford SA, Jones PP. eds. KUBY. *Inmunología*, 7e. McGraw-Hill Education; 2016. Acceso: mayo 25, 2023. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1953§ionid=143394143>.
70. Jiang L, Tang K, Levin M, Irfan O, Morris SK, Wilson K, et al. COVID-19 and multisystem inflammatory syndrome in children and adolescents. *Lancet Infect Dis*. 2020 Nov;20(11):e276-e288.
71. Chen MR, Kuo HC, Lee YJ, Chi H, Li SC, Lee HC, et al. Phenotype, susceptibility, autoimmunity, and immunotherapy between Kawasaki disease and coronavirus disease-19 associated multisystem inflammatory syndrome in children. *Front Immunol*. 2021;12:632890.
72. Gelzo M, Castaldo A, Giannattasio A, Scalia G, Raia M, Esposito MV, et al. MIS-C: A COVID-19-associated condition between hypimmunity and hyperimmunity. *Front Immunol*. 2022;13:985433.

73. Gao Z, Gao Y, Li Z, Chen Z, Lu D, Tsun A, et al. Synergy between IL-6 and TGF- β signaling promotes FOXP3 degradation. *Int J Clin Exp Pathol*. 2012;5(7):626–33.
74. Feldstein LR, Rose EB, Horwitz SM, Collins JP, Newhams MM, Son MBF, et al. Multisystem inflammatory syndrome in U.S. children and adolescents. *N Engl J Med*. 2020 Jul 23;383(4):334–46.
75. Diorio C, Henrickson SE, Vella LA, McNerney KO, Chase J, Burudpakdee C, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children and COVID-19 are distinct presentations of SARS-CoV-2. *J Clin Invest*. 2020 Nov 2;130(11):5967–75.
76. Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, Peacock SJ, Prescott HC. Pathophysiology, transmission, diagnosis, and treatment of coronavirus disease 2019 (COVID-19): A review. *JAMA*. 2020 Aug 25;324(8):782–93.
77. Maia R, Carvalho V, Faria B, Miranda I, Catarino S, Teixeira S, Lima R, Minas G, Ribeiro J. Diagnosis Methods for COVID-19: A Systematic Review. *Micromachines*. 2022; 13(8):1349.
78. Brouwer PJM, Caniels TG, van der Straten K, Snitselaar JL, Aldon Y, Bangaru S, et al. Potent neutralizing antibodies from COVID-19 patients define multiple targets of vulnerability. *Science*. 2020 Aug 7;369(6504):643–50.
79. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting diagnostic tests for SARS-CoV-2. *JAMA*. 2020 Jun 9;323(22):2249.
80. Sachdeva N. Cytokine quantitation: technologies and applications. *Front Biosci*. 2007;12(8–12):4682.
81. Royal College of Paediatrics and Child Health. Guidance paediatric multisystem inflammatory syndrome temporally associated with COVID-19 (PIMS) [Internet]. [cited 2024 Jul 3]. Available from: <https://www.rcpch.ac.uk/resources/guidance-paediatric-multisystem-inflammatory-syndrome-temporally-associated-covid-19-pims>.
82. Dufort EM, Koumans EH, Chow EJ, Rosenthal EM, Muse A, Rowlands J, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children in New York State. *N Engl J Med*. 2020 Jul 23;383(4):347–58.
83. García-Salido A, Antón J, Martínez-Pajares JD, Giralt Garcia G, Gómez Cortés B, Tagarro A, et al. Documento español de consenso sobre diagnóstico, estabilización y tratamiento del síndrome inflamatorio multisistémico pediátrico vinculado a SARS-CoV-2 (SIM-PedS). *An Pediatr (Engl Ed)*. 2021 Feb;94(2):116.e1-116.e11.
84. World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-2019) situation reports [Internet]. [cited 2020 Mar 2; accessed 2020 May 28]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/multisystem-inflammatory-syndrome-in-children-and-adolescents-with-covid-19>.

85. Pediatric Inflammatory Multisystem Syndrome CPS (Canadian Pediatrics Society Acute Care Committee 2020-2021). [Internet]. [cited 2024 Jul 7]. Available from: <https://cps.ca/en/documents/position/pims>.
86. Esteve-Sole A, Anton J, Pino-Ramirez RM, Sanchez-Manubens J, Fumadó V, Fortuny C, et al. Similarities and differences between the immunopathogenesis of COVID-19-related pediatric multisystem inflammatory syndrome and Kawasaki disease. *J Clin Invest*. 2021 Mar 15;131(6):e144554.
87. Weisberg SP, Connors T, Zhu Y, Baldwin M, Lin WH, Wontakal S, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 are distinct in children with MIS-C compared to adults with COVID-19. *Nat Immunol*. 2021 Jan;22(1):25-31.
88. Rostad CA, Chahrودي A, Mantus G, Lapp SA, Teherani M, Macoy L, et al. Quantitative SARS-CoV-2 serology in children with multisystem inflammatory syndrome (MIS-C). *Pediatrics*. 2020 Dec;146(6):e2020018242.
89. Pino R, Antoñanzas JM, Paredes-Carmona F, Perramon A, Rivière JG, Coma M, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children and SARS-CoV-2 variants: a two-year ambispective multicentric cohort study in Catalonia, Spain. *Eur J Pediatr*. 2023 Apr;182(4):1897–909.
90. Payne AB, Gilani Z, Godfred-Cato S, Belay ED, Feldstein LR, Patel MM, et al. Incidence of multisystem inflammatory syndrome in children among US persons infected with SARS-CoV-2. *JAMA Netw Open*. 2021 Jun 10;4(6):e2116420.
91. Godfred-Cato S, Bryant B, Leung J, Oster ME, Conklin L, Abrams J, et al. COVID-19-associated multisystem inflammatory syndrome in children - United States, March-July 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2020 Aug 14;69(32):1074–80.
92. Nédélec Y, Sanz J, Baharian G, Szpiech ZA, Pacis A, Dumaine A, et al. Genetic ancestry and natural selection drive population differences in immune responses to pathogens. *Cell* [Internet]. 2016 Oct 20;167(3):657-669.e21.
93. Price-Haywood EG, Burton J, Fort D, Seoane L. Hospitalization and mortality among Black patients and White patients with COVID-19. *N Engl J Med*. 2020 Jun 25;382(26):2534–43.
94. Divekar AA, Patamasucon P, Benjamin JS. Presumptive neonatal multisystem inflammatory syndrome in children associated with coronavirus disease 2019. *Am J Perinatol*. 2021 May;38(6):632–6.
95. Kappanayil M, Balan S, Alawani S, Mohanty S, Leeladharan SP, Gangadharan S, et al. Multisystem inflammatory syndrome in a neonate, temporally associated with prenatal exposure to SARS-CoV-2: a case report. *Lancet Child Adolesc Health*. 2021 Apr;5(4):304–8.

96. Morris SB, Schwartz NG, Patel P, Abbo L, Beauchamps L, Balan S, et al. Case series of multisystem inflammatory syndrome in adults associated with SARS-CoV-2 infection - United Kingdom and United States, March-August 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2020 Oct 9;69(40):1450–6.
97. Wangu Z, Swartz H, Doherty M. Multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C) possibly secondary to COVID-19 mRNA vaccination. *BMJ Case Rep*. 2022 Mar 30;15(3):e247176.
98. Yousaf AR, Cortese MM, Taylor AW, Broder KR, Oster ME, Wong JM, et al. Reported cases of multisystem inflammatory syndrome in children aged 12-20 years in the USA who received a COVID-19 vaccine, December, 2020, through August, 2021: a surveillance investigation. *Lancet Child Adolesc Health*. 2022 May;6(5):303–12.
99. Verdoni L, Mazza A, Gervasoni A, Martelli L, Ruggeri M, Ciuffreda M, et al. An outbreak of severe Kawasaki-like disease at the Italian epicentre of the SARS-CoV-2 epidemic: an observational cohort study. *Lancet*. 2020 Jun 6;395(10239):1771–8.
100. Riphagen S, Gomez X, Gonzalez-Martinez C, Wilkinson N, Theocharis P. Hyperinflammatory shock in children during COVID-19 pandemic. *Lancet*. 2020 May 23;395(10237):1607–8.
101. Pouletty M, Borocco C, Ouldali N, Caseris M, Basmaci R, Lachaume N, et al. Paediatric multisystem inflammatory syndrome temporally associated with SARS-CoV-2 mimicking Kawasaki disease (Kawa-COVID-19): a multicentre cohort. *Ann Rheum Dis*. 2020 Aug 1;79(8):999–1006.
102. Whittaker E, Bamford A, Kenny J, Kaforou M, Jones CE, Shah P, et al. Clinical characteristics of 58 children with a pediatric inflammatory multisystem syndrome temporally associated with SARS-CoV-2. *JAMA*. 2020 Jul 21;324(3):259–69.
103. McCrindle BW, Rowley AH, Newburger JW, Burns JC, Bolger AF, Gewitz M, et al. Diagnosis, treatment, and long-term management of Kawasaki disease: A scientific statement for health professionals from the American Heart Association. *Circulation*. 2017 Apr 25;135(17):99.
104. Pino R, Izurieta AC, Ríos-Barnés M, Ricart S, De Sevilla MF, Monfort L, et al. Correspondence on: ‘Paediatric multisystem inflammatory syndrome temporally associated with SARS-CoV-2 mimicking Kawasaki disease (Kawa-COVID-19): a multicentre cohort’ by Pouletty et al. *Ann Rheum Dis*. 2022 Sep;81(9):e159.
105. Jonat B, Gorelik M, Boneparth A, Geneslaw AS, Zachariah P, Shah A, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children associated with coronavirus disease 2019 in a children’s hospital in New York City: Patient characteristics and an institutional protocol for evaluation, management, and follow-up. *Pediatr Crit Care Med*. 2021 Mar 1;22(3):91.

106. Consiglio CR, Cotugno N, Sardh F, Pou C, Amodio D, Rodriguez L, et al. The immunology of multisystem inflammatory syndrome in children with COVID-19. *Cell*. 2020 Nov 12;183(4):968-981.e7.
107. Tagarro A, Cobos-Carrascosa E, Villaverde S, Sanz-Santaeufemia FJ, Grasa C, Soriano-Arandes A, et al. Clinical spectrum of COVID-19 and risk factors associated with severity in Spanish children. *Eur J Pediatr*. 2022 Mar;181(3):1105–15.
108. Abrams JY, Oster ME, Godfred-Cato SE, Bryant B, Datta SD, Campbell AP, et al. Factors linked to severe outcomes in multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C) in the USA: A retrospective surveillance study. *Lancet Child Adolesc Health*. 2021 May;5(5):323–31.
109. Lee KY, Rhim JW, Kang JH. Immunopathogenesis of COVID-19 and early immunomodulators. *Clin Exp Pediatr*. 2020 Jul 15;63(7):239–50.
110. Tetro JA. Is COVID-19 receiving ADE from other coronaviruses? *Microbes Infect*. 2020 Mar;22(2):72–3.
111. Junqueira C, Crespo Â, Ranjbar S, de Lacerda LB, Lewandrowski M, Ingber J, et al. FcγR-mediated SARS-CoV-2 infection of monocytes activates inflammation. *Nature*. 2022 Jun;606(7914):576–84.
112. Katzelnick LC, Narvaez C, Arguello S, Lopez Mercado B, Collado D, Ampie O, et al. Zika virus infection enhances future risk of severe dengue disease. *Science*. 2020 Aug 28;369(6507):1123–8.
113. Ulrich H, Pillat MM, Tárnok A. Dengue Fever, COVID-19 (SARS-CoV-2), and Antibody-Dependent Enhancement (ADE): A Perspective. *Cytometry A*. 2020 Jul;97(7):662–7.
114. Cheng MH, Zhang S, Porritt RA, Noval Rivas M, Paschold L, Willscher E, et al. Superantigenic character of an insert unique to SARS-CoV-2 spike supported by skewed TCR repertoire in patients with hyperinflammation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2020 Oct 13;117(41):25254–62.
115. Sacco K, Castagnoli R, Vakkilainen S, Liu C, Delmonte OM, Oguz C, et al. Immunopathological signatures in multisystem inflammatory syndrome in children and pediatric COVID-19. *Nat Med*. 2022 May;28(5):1050–62.
116. Brodsky NN, Ramaswamy A, Lucas CL. The Mystery of MIS-C Post-SARS-CoV-2 Infection. *Trends Microbiol*. 2020 Dec;28(12):956–8.
117. Alberer M, von Both U. Cats and kids: how a feline disease may help us unravel COVID-19 associated paediatric hyperinflammatory syndrome. *Infection*. 2021 Feb;49(1):191–3.

118. Shi S, Qin M, Shen B, Cai Y, Liu T, Yang F, et al. Association of cardiac injury with mortality in hospitalized patients with COVID-19 in Wuhan, China. *JAMA Cardiol.* 2020 Jul 1;5(7):802–10.
119. Zuin M, Rigatelli G, Zuliani G, Rigatelli A, Mazza A, Roncon L. Arterial hypertension and risk of death in patients with COVID-19 infection: Systematic review and meta-analysis. *J Infect.* 2020 Jul;81(1)–6.
120. Su H, Yang M, Wan C, Yi LX, Tang F, Zhu HY, et al. Renal histopathological analysis of 26 postmortem findings of patients with COVID-19 in China. *Kidney Int.* 2020 Jul 1;98(1):219–27.
121. Lakota K, Perdan-Pirkmajer K, Hočevár A, Sodin-Semrl S, Rotar Ž, Čučnik S, et al. COVID-19 in association with development, course, and treatment of systemic autoimmune rheumatic diseases. *Front Immunol.* 2021 Jan 26;11:611318.
122. Zhang Q, Bastard P, Liu Z, Le Pen J, Moncada-Velez M, Chen J, et al. Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19. *Science.* 2020 Oct 23;370(6515):eabd4570.
123. López-Nevado M, Sevilla J, Almendro-Vázquez P, Gil-Etayo FJ, Garcinuño S, Serrano-Hernández A, et al. Inborn error of STAT2-dependent IFN-I immunity in a patient presented with hemophagocytic lymphohistiocytosis and multisystem inflammatory syndrome in children. *J Clin Immunol.* 2023 Aug;43(6):1278–88.
124. Lee D, Le Pen J, Yatim A, Dong B, Aquino Y, Ogishi M, et al. Inborn errors of OAS-RNase L in SARS-CoV-2-related multisystem inflammatory syndrome in children. *Science.* 2023 Feb 10;379(6632):eabo3627.
125. García-García A, Fortuny C, Fumadó V, Jordan I, Ruiz-López L, González-Navarro EA, et al. Acute and long-term immune responses to SARS-CoV-2 infection in unvaccinated children and young adults with inborn errors of immunity. *Front Immunol.* 2023 Jan 20;14:1084630.
126. Ouldali N, Toubiana J, Antona D, Javouhey E, Madhi F, Lorrot M, et al. Association of intravenous immunoglobulins plus methylprednisolone vs immunoglobulins alone with course of fever in multisystem inflammatory syndrome in children. *JAMA.* 2021 Mar 2;325(9):855–64.
127. Wahezi DM, Lo MS, Rubinstein TB, Ringold S, Ardoin SP, Downes KJ, et al. American College of Rheumatology guidance for the management of pediatric rheumatic disease during the COVID-19 pandemic: Version 1. *Arthritis Rheumatol.* 2020 Nov;72(11):1809–19.
128. Mikuls TR, Johnson SR, Fraenkel L, Arasaratnam RJ, Baden LR, Bermas BL, et al. American College of Rheumatology guidance for the management of rheumatic

disease in adult patients during the COVID-19 pandemic: Version 3. *Arthritis Rheumatol.* 2021 Feb;73(2)–12.

129. Çağlayan Ş, Sönmez HE, Otur Yener G, Bağlan E, Öztürk K, Ulu K, et al. Anakinra treatment in multisystemic inflammatory syndrome in children (MIS-C) associated with COVID-19. *Front Pediatr.* 2022;10:942455.

130. Yamaguchi Y, Takasawa K, Irabu H, Hiratoko K, Ichigi Y, Hirata K, et al. Infliximab treatment for refractory COVID-19-associated multisystem inflammatory syndrome in a Japanese child. *J Infect Chemother.* 2022 Jun;28(6):814–8.

131. Cole LD, Osborne CM, Silveira LJ, Rao S, Lockwood JM, Kunkel MJ, et al. IVIG compared with IVIG plus infliximab in multisystem inflammatory syndrome in children. *Pediatrics.* 2021 Dec 1;148(6):e2021052702.

132. Ye Q, Wang B, Mao J. The pathogenesis and treatment of the 'cytokine storm' in COVID-19. *J Infect.* 2020 Jun;80(6):607–13.

133. Penner J, Abdel-Mannan O, Grant K, Maillard S, Kucera F, Hassell J, et al. 6-month multidisciplinary follow-up and outcomes of patients with pediatric inflammatory multisystem syndrome (PIMS-TS) at a UK tertiary pediatric hospital: a retrospective cohort study. *Lancet Child Adolesc Health.* 2021 Jul;5(7):473–82.

134. Farooqi KM, Chan A, Weller RJ, Mi J, Jiang P, Abrahams E, et al. Longitudinal outcomes for multisystem inflammatory syndrome in children. *Pediatrics.* 2021 Aug;148(2):e2021051155.

135. Capone CA, Misra N, Ganigara M, Epstein S, Rajan S, Acharya SS, et al. Six month follow-up of patients with multi-system inflammatory syndrome in children. *Pediatrics.* 2021 Oct;148(4):e2021050973.

136. Davies P, du Pré P, Lillie J, Kanthimathinathan HK. One-year outcomes of critical care patients post-COVID-19 multisystem inflammatory syndrome in children. *JAMA Pediatr.* 2021 Dec 1;175(12):1281–3.

137. Ramcharan T, Nolan O, Lai CY, Prabhu N, Krishnamurthy R, Richter AG, et al. Pediatric inflammatory multisystem syndrome: temporally associated with SARS-CoV-2 (PIMS-TS): Cardiac features, management and short-term outcomes at a UK tertiary pediatric hospital. *Pediatr Cardiol.* 2020 Oct 1;41(7):1391–401.

138. Kawasaki T. [Acute febrile mucocutaneous syndrome with lymphoid involvement with specific desquamation of the fingers and toes in children]. *Arerugi.* 1967 Mar;16(3):178–222.

139. Rodó X, Ballester J, Cayan D, Melish ME, Nakamura Y, Uehara R, et al. Association of Kawasaki disease with tropospheric wind patterns. *Sci Rep.* 2011;1:152.

140. Alramadhan MM, Kamdar AA, Lafferty-Prather M, Aguilera EA, Wootton SH. Incomplete Kawasaki Disease Associated With Human Herpes Virus-6 Variant B Infection and Aseptic Meningitis. *Glob Pediatr Health*. 2020;7:2333794X20939759.
141. Kikuta H, Matsumoto S, Osato T. Kawasaki disease and Epstein-Barr virus. *Acta Paediatr Jpn*. 1991;33(6):765–70.
142. Catalano-Pons C, Quartier P, Leruez-Ville M, Kaguelidou F, Gendrel D, Lenoir G, et al. Primary cytomegalovirus infection, atypical Kawasaki disease, and coronary aneurysms in 2 infants. *Clin Infect Dis*. 2005 Sep 1;41:e53-6.
143. Hu P, Guan Y, Fan XC, Lu FY, Song LM. Incomplete Kawasaki disease induced by measles in a 6-month-old male infant. *Int J Dermatol*. 2016 Jan 30;55(1):e34-6.
144. Huang X, Huang P, Zhang L, Xie X, Xia S, Gong F, et al. Influenza infection and Kawasaki disease. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2015 Jun 27;48(3):243–8.
145. Leen C, Ling S. Mycoplasma infection and Kawasaki disease. *Arch Dis Child*. 1996;75(3):266–7.
146. Jaggi P, Kajon AE, Mejias A, Ramilo O, Leber A. Human adenovirus infection in Kawasaki disease: a confounding bystander? *Clin Infect Dis*. 2013;56(1):58–64.
147. Nigro G, Midulla M. Retrovirus and Kawasaki disease. *Lancet* [Internet]. 1986 Nov 1;2(8514):1045.
148. Moreira A, Leite I, Baptista A, Osório Ferreira E. Kawasaki disease associated with parainfluenza type 3 virus infection. *Acta Dermatovenerol Croat*. 2010;18(2):120–3.
149. Huang SM, Huang SH, Weng KP, Chien KJ, Lin CC, Huang YF. Update on association between Kawasaki disease and infection. *J Chin Med Assoc*. 2019 Mar;82(3):172–4.
150. Almeida JD, Tyrrell DA. The morphology of three previously uncharacterized human respiratory viruses that grow in organ culture. *J Gen Virol*. 1967 Apr;1(2):175–8.
151. Virology: Coronaviruses. *Nature*. 1968 Nov;220(5168):650–650.
152. Fouchier RAM, Hartwig NG, Bestebroer TM, Niemeyer B, de Jong JC, Simon JH, et al. A previously undescribed coronavirus associated with respiratory disease in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Apr 20;101(16):6212–6.
153. Esper F, Shapiro ED, Weibel C, Ferguson D, Landry ML, Kahn JS. Association between a novel human coronavirus and Kawasaki disease. *J Infect Dis*. 2005 Feb 15;191(4):499–502.

154. Shimizu C, Shike H, Baker SC, Garcia F, Van Der Hoek L, Kuijpers TW, et al. Human coronavirus NL63 is not detected in the respiratory tracts of children with acute Kawasaki disease. *J Infect Dis*. 2005 Nov 15;192(10):1767–71.
155. Dominguez SR, Anderson MS, Glodé MP, Robinson CC, Holmes KV. Blinded case-control study of the relationship between human coronavirus NL63 and Kawasaki syndrome. *J Infect Dis*. 2006 Dec 15;194(12):1697–701.
156. Jones VG, Mills M, Suarez D, Hogan CA, Yeh D, Bradley Segal J, et al. COVID-19 and Kawasaki Disease: Novel Virus and Novel Case. *Hosp Pediatr [Internet]*. 2020 Jun 1;10(6):537–40.
157. Iio K, Uda K, Hataya H, Yasui F, Honda T, Sanada T, et al. Kawasaki disease or Kawasaki-like disease: Influence of SARS-CoV-2 infections in Japan. *Acta Paediatr*. 2021 Feb;110(2):600–1.
158. Kim BJ, Choi A, Kim HS, Oh JH, Lee JY, Kim S, et al. Changes in the Clinical Characteristics of Kawasaki Disease After Coronavirus Disease (COVID-19) Pandemic: A Database Analysis. *J Korean Med Sci*. 2022 May 23;37(20):e141.
159. Nakamura Y, Kawasaki Disease Surveillance Team in Japan. No relationship was observed between Kawasaki disease and COVID-19 in Japan. *Pediatr Int*. 2021 Aug;63(8):977.
160. Burney JA, Roberts SC, DeHaan LL, Shimizu C, Bainto EV, Newburger JW, et al. Epidemiological and Clinical Features of Kawasaki Disease During the COVID-19 Pandemic in the United States. *JAMA Netw Open*. 2022 Jun 17;5(6):e2217436.
161. Ghosh P, Katkar GD, Shimizu C, Kim J, Khandelwal S, Tremoulet AH, et al. An Artificial Intelligence-guided signature reveals the shared host immune response in MIS-C and Kawasaki disease. *Nat Commun*. 2022 May 16;13(1):2687.
162. Lee PY, Day-Lewis M, Henderson LA, Friedman KG, Lo J, Roberts JE, et al. Distinct clinical and immunological features of SARS-CoV-2-induced multisystem inflammatory syndrome in children. *J Clin Invest*. 2020 Oct 5;130(11):5942–50.
163. Carter MJ, Fish M, Jennings A, Doores KJ, Wellman P, Seow J, et al. Peripheral immunophenotypes in children with multisystem inflammatory syndrome associated with SARS-CoV-2 infection. *Nat Med*. 2020 Nov;26(11):1701–7.
164. Burns JC, DeHaan LL, Shimizu C, Bainto EV, Tremoulet AH, Cayan DR, et al. Temporal Clusters of Kawasaki Disease Cases Share Distinct Phenotypes That Suggest Response to Diverse Triggers. *J Pediatr*. 2021 Feb;229:48–53.e1.
165. Cheung EW, Zachariah P, Gorelik M, Boneparth A, Kernie SG, Orange JS, et al. Multisystem Inflammatory Syndrome Related to COVID-19 in Previously Healthy Children and Adolescents in New York City. *JAMA*. 2020 Jul 21;324(3):294–6.

166. Kanegaye JT, Wilder MS, Molkara D, Frazer JR, Pancheri J, Tremoulet AH, et al. Recognition of a Kawasaki disease shock syndrome. *Pediatrics*. 2009 May;123(5):e783-9.
167. Koné-Paut I, Cimaz R. Is it Kawasaki shock syndrome, Kawasaki-like disease or pediatric inflammatory multisystem disease? The importance of semantic in the era of COVID-19 pandemic. *RMD Open*. 2020 Jun;6(2):e001333.
168. Tam H, El Tal T, Go E, Yeung RSM. Pediatric inflammatory multisystem syndrome temporally associated with COVID-19: a spectrum of diseases with many names. *CMAJ*. 2020 Sep 21;192(38)–6.
169. Yeung RS, Ferguson PJ. Is multisystem inflammatory syndrome in children on the Kawasaki syndrome spectrum? *J Clin Invest*. 2020 Nov 2;130(11):5681–4.
170. Viner RM, Whittaker E. Kawasaki-like disease: emerging complication during the COVID-19 pandemic. *Lancet*. 2020 Jun 6;395(10239):1741–3.
171. Sharma C, Ganigara M, Galeotti C, Burns J, Berganza FM, Hayes DA, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children and Kawasaki disease: a critical comparison. *Nat Rev Rheumatol*. 2021 Dec;17(12):731–48.
172. Beckmann ND, Comella PH, Cheng E, Lepow L, Beckmann AG, Tyler SR, et al. Downregulation of exhausted cytotoxic T cells in gene expression networks of multisystem inflammatory syndrome in children. *Nat Commun*. 2021 Aug 11;12(1):4854.
173. Burns JC, Geha RS, Schneeberger EE, Newburger JW, Rosen FS, Glezen LS, et al. Polymerase activity in lymphocyte culture supernatants from patients with Kawasaki disease. *Nature*. 1986 Mar 27;323(6091):814–6.
174. Yim D, Curtis N, Cheung M, Burgner D. Update on Kawasaki disease: epidemiology, aetiology and pathogenesis. *J Paediatr Child Health*. 2013 Sep;49(9):704–8.
175. Sánchez-Manubens J, Antón J, Bou R, Iglesias E, Calzada-Hernandez J, Kawasaki Disease in Catalonia Working Group. Incidence, epidemiology and clinical features of Kawasaki disease in Catalonia, Spain. *Clin Exp Rheumatol*. 2016;34(3 Suppl 97).
176. Newburger JW, Takahashi M, Burns JC, Beiser AS, Chung KJ, Duffy CE, et al. The treatment of Kawasaki syndrome with intravenous gamma globulin. *N Engl J Med*. 1986 Aug 7;315(6):341–7.
177. Melgar M, Lee EH, Miller AD, Lim S, Brown CM, Yousaf AR, et al. Council of State and Territorial Epidemiologists/CDC Surveillance Case Definition for Multisystem Inflammatory Syndrome in Children Associated with SARS-CoV-2 Infection — United States. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2022 Dec 16;71(4):1–14.

178. Son MBF, Burns JC, Newburger JW. A new definition for multisystem inflammatory syndrome in children. *Pediatrics*. 2023 Mar 1;151(3):e2022060302.
179. Geva A, Patel MM, Newhams MM, Young CC, Son MBF, Kong M, et al. Data-driven clustering identifies features distinguishing multisystem inflammatory syndrome from acute COVID-19 in children and adolescents. *EClinicalMedicine*. 2021 Oct;40:101112.
180. Godfred-Cato S, Abrams JY, Balachandran N, Jaggi P, Jones K, Rostad CA, et al. Distinguishing multisystem inflammatory syndrome in children from COVID-19, Kawasaki disease, and toxic shock syndrome. *Pediatr Infect Dis J*. 2022 Apr 1;41(4):315–23.
181. Miller AD, Yousaf AR, Bornstein E, Wu MJ, Lindsey K, Melgar M, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children during severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Delta and Omicron variant circulation—United States, July 2021–January 2022. *Clin Infect Dis*. 2022 Oct 3;75(Suppl 2)–7.
182. Lam JY, Shimizu C, Tremoulet AH, Bainto E, Roberts SC, Sivilay N, et al. A machine-learning algorithm for diagnosis of multisystem inflammatory syndrome in children and Kawasaki disease in the USA: a retrospective model development and validation study. *Lancet Digit Health*. 2022 Oct;4(10)–26.
183. Castaldo P, d'Alanno G, Biserni GB, Moratti M, Conti F, Fabi M, et al. Exploring factors influencing changes in incidence and severity of multisystem inflammatory syndrome in children. *Pathogens*. 2023 Jul 30;12(8):997.
184. Perramon A, Soriano-Arandes A, Pino D, Lazcano U, Andrés C, Català M, et al. Schools as a framework for COVID-19 epidemiological surveillance of children in Catalonia, Spain: A population-based study. *Front Pediatr*. 2021;9:754744.
185. Levy M, Recher M, Hubert H, Javouhey E, Fléchelles O, Leteurtre S, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children by COVID-19 vaccination status of adolescents in France. *JAMA*. 2022 Jan 18;327(3):281–3.
186. Zambrano LD, Newhams MM, Olson SM, Halasa NB, Price AM, Boom JA, et al. Effectiveness of BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) mRNA vaccination against multisystem inflammatory syndrome in children among persons aged 12–18 years - United States, July–December 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2022 Jan 14;71(2):52–8.
187. Clarke KEN, Kim Y, Jones J, Lee A, Deng Y, Nycz E, et al. Pediatric infection-induced SARS-CoV-2 seroprevalence increases and seroprevalence by type of clinical care—September 2021 to February 2022. *J Infect Dis*. 2023 Feb 1;227(3):364–70.
188. Meng B, Abdullahi A, Ferreira IATM, Goonawardane N, Saito A, Kimura I, et al. Altered TMPRSS2 usage by SARS-CoV-2 Omicron impacts infectivity and fusogenicity. *Nature*. 2022 Mar 24;603(7902):706–14.

189. Javalkar K, Robson VK, Gaffney L, Bohling AM, Arya P, Servattalab S, et al. Socioeconomic and racial and/or ethnic disparities in multisystem inflammatory syndrome. *Pediatrics*. 2021 May;147(5).
190. Castagnola E, Mariani M, Sticchi C, Sticchi L, Spiazzi R, Caorsi R, et al. Incidence rate of MIS-C in paediatrics: A good reason to vaccinate children against SARS-CoV-2. *Acta Paediatr*. 2022 Jan;111(1):123–4.
191. Rhedin S, Lundholm C, Horne A, Smew AI, Osvald EC, Haddadi A, et al. Risk factors for multisystem inflammatory syndrome in children - A population-based cohort study of over 2 million children. *Lancet Reg Health Eur*. 2022 Aug;19:100443.
192. Brodin P. SARS-CoV-2 infections in children: Understanding diverse outcomes. *Immunity*. 2022 Feb 8;55(2):201–9.
193. Cloete J, Kruger A, Masha M, du Plessis NM, Mawela D, Tshukudu M, et al. Paediatric hospitalisations due to COVID-19 during the first SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529) variant wave in South Africa: A multicentre observational study. *Lancet Child Adolesc Health*. 2022 May;6(5):294–302.
194. Cohen JM, Carter MJ, Cheung CR, Ladhani S. Lower risk of multisystem inflammatory syndrome in children with the Delta and Omicron variants of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Clin Infect Dis*. 2023 Feb 8;76(3)–21.
195. Levy N, Koppel JH, Kaplan O, Yechiam H, Shahar-Nissan K, Cohen NK, et al. Severity and incidence of multisystem inflammatory syndrome in children during 3 SARS-CoV-2 pandemic waves in Israel. *JAMA*. 2022 Jun 28;327(24):2452–4.
196. Bellini T, Bustaffa M, Caorsi R, Tibaldi J, Gattorno M, Piccotti E. The incidence of multisystem inflammatory syndrome in a pediatric emergency department. *Acta Paediatr*. 2022 Sep;111(9):1819–20.
197. Lopez L, Burgner D, Glover C, Carr J, Clark J, Boast A, et al. Lower risk of multi-system inflammatory syndrome in children (MIS-C) with the Omicron variant. *Lancet Reg Health West Pac*. 2022 Oct;27:100604.
198. Holm M, Espenhain L, Glenthøj J, Schmidt LS, Nordly SB, Hartling UB, et al. Risk and phenotype of multisystem inflammatory syndrome in vaccinated and unvaccinated Danish children before and during the Omicron wave. *JAMA Pediatr*. 2022 Aug 1;176(8):821–3.
199. Sorg AL, Schönfeld V, Siedler A, Hufnagel M, Doenhardt M, Diffloth N, et al. SARS-CoV-2 variants and the risk of pediatric inflammatory multisystem syndrome temporally associated with SARS-CoV-2 among children in Germany. *Infection*. 2023 Jun;51(3):729–35.

200. Karatzios C, Scuccimarri R, Chédeville G, Basfar W, Bullard J, Stein DR. Multisystem inflammatory syndrome following SARS-CoV-2 vaccination in two children. *Pediatrics*. 2022 Aug 1;150(2) :e2021055956.
201. Epalza C, Prieto-Tato L, Pino R, Escartín-Paredes P, Leoz I, Grasa C, et al. Safety and acceptance of COVID-19 vaccination after multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C) in Spain. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2022 Oct 25;11(10):471–3.
202. Consulta de datos poblacionales en el Instituto de Estadística de Cataluña. [Internet]. [cited 2022 Aug 5]. Disponible en: <https://www.idescat.cat/poblaocioestrangera/?geo=cat&nac=a&b=11&lang=en>.
203. Swann OV, Holden KA, Turtle L, Pollock L, Fairfield CJ, Drake TM, et al. Clinical characteristics of children and young people admitted to hospital with COVID-19 in the United Kingdom: prospective multicentre observational cohort study. *BMJ*. 2020 Aug 27;370.
204. Moreno Rojas AF, Bainto E, Harvey H, Tremoulet AH, Burns JC, Dummer KB. SARS-CoV-2 variants are associated with different clinical courses in children with MIS-C. *World J Pediatr*. 2024. Feb;20(2):143-152.
205. Lin CY, Lin CC, Hwang B, Chiang BN. The changes of interleukin-2, tumour necrotic factor and gamma-interferon production among patients with Kawasaki disease. *Eur J Pediatr*. 1991 Jan;150(3):179–82.
206. Tremoulet AH, Jain S, Kim S, Newburger J, Arditi M, Franco A, et al. Rationale and study design for a phase I/IIa trial of anakinra in children with Kawasaki disease and early coronary artery abnormalities (the ANAKID trial). *Contemp Clin Trials*. 2016 May;48:70–5.
207. Jia S, Li C, Wang G, Yang J, Zu Y. The T helper type 17/regulatory T cell imbalance in patients with acute Kawasaki disease. *Clin Exp Immunol*. 2010 Sep 9;162(1):131–7.
208. Diorio C, Shraim R, Vella LA, Giles JR, Baxter AE, Oldridge DA, et al. Proteomic profiling of MIS-C patients reveals heterogeneity relating to interferon gamma dysregulation and vascular endothelial dysfunction. *Nat. Comun*. 2021 Dec 10;12(1):7222.
209. Roncati L, Ligabue G, Fabbiani L, Malagoli C, Gallo G, Lusenti B, et al. Type 3 hypersensitivity in COVID-19 vasculitis. *Clin Immunol*. 2020 Aug;217:108487.
210. Andersson MI, Arancibia-Carcamo CV, Auckland K, Baillie JK, Barnes E, Beneke T, et al. SARS-CoV-2 RNA detected in blood products from patients with COVID-19 is not associated with infectious virus. *Wellcome Open Res*. 2020;5:181.

211. Colmenero I, Santonja C, Alonso-Riaño M, Noguera-Morel L, Hernández-Martín A, Andina D, et al. SARS-CoV-2 endothelial infection causes COVID-19 chilblains: histopathological, immunohistochemical and ultrastructural study of seven pediatric cases. *Br J Dermatol*. 2020 Oct;183(4):729–37.