



# Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Original

## Estudio epidemiológico de *Haemophilus influenzae* causante de enfermedad invasiva y no invasiva en Paraguay (1999-2017)



María Eugenia León<sup>a,\*</sup>, Aníbal Kawabata<sup>a</sup>, Minako Nagai<sup>a</sup>, Liliana Rojas<sup>a</sup>, Gustavo Chamorro<sup>a</sup>, Noemí Zárate<sup>b</sup>, Gloria Gómez<sup>c</sup>, Myrian Leguizamón<sup>d</sup>, Juan Irala<sup>e</sup>, Juana Ortellado<sup>f</sup>, Rossana Franco<sup>g</sup> y Nancy Segovia<sup>h</sup>

<sup>a</sup> Sección Enfermedades Respiratorias y Meningeas, Laboratorio Central de Salud Pública, Asunción, Paraguay

<sup>b</sup> Servicio de Bacteriología y Micología, Hospital General Pediátrico Niños de Acosta Ñu, San Lorenzo, Paraguay

<sup>c</sup> Servicio de Microbiología, Hospital Nacional de Itauguá, Itauguá, Paraguay

<sup>d</sup> Servicio de Microbiología, Instituto de Previsión Social, Asunción, Paraguay

<sup>e</sup> Sección de Microbiología, Instituto de Medicina Tropical, Asunción, Paraguay

<sup>f</sup> Departamento de Microbiología, Hospital de Clínicas, San Lorenzo, Paraguay

<sup>g</sup> Servicio de Microbiología, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias y del Ambiente, Asunción, Paraguay

<sup>h</sup> Laboratorio de Microbiología, Hospital Regional Ciudad del Este, Ciudad del Este, Paraguay

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historia del artículo:

Recibido el 4 de octubre de 2019

Aceptado el 9 de febrero de 2020

On-line el 18 de marzo de 2020

#### Palabras clave:

*Haemophilus influenzae*

Serotipos

Biotipos

Sensibilidad antimicrobiana

Paraguay

Vacunas

### R E S U M E N

**Introducción:** *Haemophilus influenzae* (Hi) causa infecciones leves e invasivas graves, especialmente en niños menores de 5 años. El serotipo b (Hib) era muy frecuente antes de la introducción de la vacuna, que en Paraguay se introdujo en 2004.

**Métodos:** Se estudiaron por métodos microbiológicos convencionales y técnicas moleculares 523 aislados de *H. influenzae* obtenidos desde 1999 a 2017 y remitidos al Laboratorio Nacional de Referencia de Paraguay.

**Resultados:** El serotipo más frecuente fue el no-tipable (HiNT), en un 51,8% (271/523), seguido de Hib (43%; 225/523), Hia e Hif (1,5%; 8/523, respectivamente), Hic (1%; 5/523), Hie (0,8%; 4/523) y Hid (0,4%; 2/523). El 48,4% de las infecciones invasivas estaban causadas por HiNT y el 46,1% por Hib. El 88,6% de las cepas procedían de casos de meningitis, el 70,8% de sepsis y el 50,9% de neumonías en niños menores de 5 años. El 84% (181/217) de las cepas correspondían a enfermedades invasivas causadas por Hib en menores de 5 años, registrándose la mayor proporción entre 2001-2003. Los biotipos más prevalentes fueron el biotipo I (29%), biotipo II (12%), biotipo III (24%) y biotipo IV (13%). El 13% (68/523) de los aislados fueron resistentes a la ampicilina.

**Conclusión:** Tras de la introducción de la vacuna frente a Hib en Paraguay, los casos de enfermedad invasiva por Hib disminuyeron en niños menores de 5 años y hubo un aumento de HiNT en los mayores de 5 años. Es necesaria una vigilancia continua para monitorizar la eficacia de la vacuna y desarrollar intervenciones preventivas.

© 2020 Elsevier España, S.L.U.

y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.

### Epidemiologic study of *Haemophilus influenzae* causing invasive and non-invasive disease in Paraguay (1999-2017)

#### A B S T R A C T

#### Keywords:

*Haemophilus influenzae*

Serotypes

Biotypes

Antimicrobial susceptibility

Paraguay

Vaccines

**Introduction:** *Haemophilus influenzae* is a cause of mild and severe invasive infections, especially among children under 5 years old. Serotype b (Hib) was very frequent before the introduction of the vaccine, which was introduced in Paraguay in 2004.

**Methods:** A total of 523 isolates of *H. influenzae* obtained from 1999 to 2017 and referred to the National Reference Laboratory in Paraguay were studied by conventional microbiological methods and molecular techniques.

\* Autora para correspondencia.

Correo electrónico: [maruleonayala@hotmail.com](mailto:maruleonayala@hotmail.com) (M.E. León).

<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2020.02.020>

0213-005X/© 2020 Elsevier España, S.L.U. y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.

**Results:** The most frequent serotype was non-typeable (HiNT) (51.8%; 271/523), followed by Hib (43%; 225/523), Hia and Hif (1.5%; 8/523, respectively), Hic (1%; 5/523), Hie (0.8%; 4/523), and Hid (0.4%; 2/523). A total of 48.4% invasive infections were caused by HiNT, and 46.1% by Hib; 88.6% of isolates corresponded to meningitis, 70.8% to sepsis and 50.9% to pneumonia in children under 5 years. A total of 84% (181/217) of isolates corresponded to invasive infections caused by Hib in children under 5 years, with the highest proportion observed between 2001 and 2003. The most prevalent biotypes were biotype I (29%), biotype II (12%), biotype III (24%), and biotype IV (13%). Among the total of isolates, 13% (68/523) of isolates were resistant to ampicillin.

**Conclusion:** After the introduction of the Hib vaccine in Paraguay, the number of invasive Hib cases decreased in children under 5 years old, although we observed an increase of HiNT in children over 5 years. Continuous surveillance is necessary in order to monitor the effectiveness of the vaccine and for the development of preventive interventions.

© 2020 Elsevier España, S.L.U. and Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. All rights reserved.

## Introducción

*Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*) es un microorganismo gramnegativo comensal de la nasofaringe que puede causar graves enfermedades invasivas como meningitis, neumonías y sepsis en individuos susceptibles. La enfermedad invasiva afecta principalmente a niños menores de 2 años, así como a ancianos e inmunocomprometidos<sup>1,2</sup>.

Uno de los factores de virulencia más importantes de *H. influenzae* es la cápsula polisacáridica que es el antígeno involucrado en el serotipado de los aislamientos y en la inmunidad de la vacuna. Este microorganismo se clasifica en 6 serotipos diferentes atendiendo a su cápsula, denominados *H. influenzae* a (Hia), b (Hib), c (Hic), d (Hid), e (Hie) y f (Hif)<sup>3</sup>. Algunos aislados que no poseen cápsula son menos virulentos y se les denomina no encapsulados o no típicos (HiNT)<sup>4,5</sup>. Además *H. influenzae* se clasifica en 8 biotipos diferentes (I, II, III, IV, V, VI, VII y VIII) en base a sus propiedades bioquímicas y enzimáticas.

Hib es el serotipo más invasivo y se reconoce como causa importante de neumonía y meningitis<sup>6</sup>. Antes de la introducción de la vacuna conjugada frente a Hib, se producían aproximadamente 2,2 millones de casos de enfermedad grave por Hib anualmente por este serotipo, la gran mayoría en entornos de bajos ingresos<sup>7</sup> y un estimado de 386.000 muertes por año. Asimismo, en el periodo prevacunal, Hib causaba al menos el 95% de las enfermedades invasivas en niños. La vacuna conjugada ha sido muy eficaz, reduciendo las tasas de enfermedad tanto en países desarrollados como en países en vías de desarrollo, con descensos en la enfermedad invasiva por Hib del 90–98%<sup>8</sup>. En el año 2004 Paraguay introdujo la vacuna pentavalente, que incluye Hib, en el esquema de vacunación nacional para niños de 2, 4 y 6 meses de edad de forma gratuita. Según los datos del Programa Ampliado de Inmunizaciones esta vacuna tiene una cobertura en el país del 73% (2019).

Durante la última década, se ha comunicado un aumento de la prevalencia de infecciones causadas por HiNT en todo el mundo, sugiriendo el reemplazo del serotipo b en la era posvacunal, como nuevo nicho ecológico<sup>1</sup> y existiendo una tendencia hacia el aumento en la incidencia de enfermedades graves causadas por HiNT.

Debido a que es necesario un tratamiento precoz en el caso de enfermedad invasiva grave, mientras se obtienen los resultados del cultivo y antibiograma, es necesario instaurar un tratamiento empírico, por lo que es importante conocer la sensibilidad antibiótica local de este patógeno. La resistencia a ampicilina llevó al uso de cefalosporinas de tercera generación como antimicrobianos empíricos<sup>9</sup>. La resistencia es debida a la producción de betalactamasas y/o a la alteración de las proteínas fijadoras de penicilina (PBP)<sup>10</sup>.

El objetivo de este estudio fue describir las características fenotípicas, genotípicas y la sensibilidad a antimicrobianos de aislamientos invasivos y no invasivos de *H. influenzae* recibidos en el Laboratorio Nacional de Referencia de Paraguay durante el periodo 1999 al 2017.

## Métodos

Estudio observacional descriptivo retrospectivo de corte transversal. Se incluyeron en este estudio tanto aislados invasivos como no invasivos procedentes de líquido cefalorraquídeo, sangre, líquido pleural, secreción ocular y secreción ótica de distintos pacientes de todas las edades, que fueron remitidos al Laboratorio Central de Salud Pública (LCSP) por los diferentes centros centinelas y centros colaboradores de Paraguay desde 1999 a 2017. No se incluyeron en este estudio aislados procedentes de otros orígenes respiratorios.

### Aislamiento, identificación y serotipificación

El aislamiento e identificación se realizó por métodos microbiológicos convencionales: tinción de Gram, morfología de las colonias en agar chocolate, y requerimiento de factores V y X (Difco, EE. UU.). El serotipado de los aislamientos fue realizado por la técnica de aglutinación en lámina, con antiseros polivalentes y monovalentes (Difco, EE: UU.) y confirmado por reacción en cadena de la polimerasa basado en la detección de genes capsulares específicos del serotipo, como se ha descrito previamente<sup>11</sup>. Se definieron los biotipos a través de las pruebas de producción de ureasa, ornitina descarboxilasa e indol.

### Sensibilidad a antimicrobianos

Se determinó la concentración inhibitoria mínima de ampicilina y ceftriaxona utilizando el método epsilométrico E-test (bioMérieux, Francia) y mediante difusión con disco (Kirby Bauer) para trimetoprim-sulfametoxazol, cloranfenicol, cefuroxima y rifampicina en agar *Haemophilus test medium* (Oxoid, Inglaterra), suplementado con hematina y nicotinamida adenina dinucleótido (Oxoid, Inglaterra). La producción de betalactamasas se determinó por el método de la cefalosporina cromogénica, utilizando discos de nitrocefina (BBL, EE: UU.).

Se utilizaron como cepas de control de calidad *H. influenzae* ATCC 49247 y *H. influenzae* ATCC 49766.

Las técnicas se realizaron e interpretaron siguiendo las recomendaciones del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI)<sup>12</sup>.

**Tabla 1**  
Distribución de aislados de *Haemophilus influenzae* por año, diagnóstico y grupo de edad en Paraguay (1999–2017) (n = 523)

Año de aislamiento	< 5 años (n = 344)		> 5 años (n = 179)		Total (n = 523)
	n	%	n	%	
1999	19	90,50	2	9,50	21
2000	12	85,70	2	14,3	14
2001	43	86	7	14	50
2002	49	71	20	29	69
2003	47	94	3	6	50
2004	19	79,20	5	20,80	24
2005	13	50	13	50	26
2006	20	83,30	4	16,70	24
2007	9	69,20	4	30,80	13
2008	9	69,20	4	30,80	13
2009	10	71,40	4	28,60	14
2010	19	90,50	2	9,50	21
2011	9	90	1	10	10
2012	8	42,10	11	57,90	19
2013	15	68,20	7	31,80	22
2014	2	18,20	9	81,80	11
2015	17	37	29	63	46
2016	15	32	32	68	47
2017	9	31	20	69	29
<b>Diagnóstico</b>					
MBA	124	88,60	16	11,40	140
NBA/NAC	145	50,90	140	49,10	285
Sepsis	34	70,80	14	29,20	48
Otros <sup>a</sup>	41	82	9	18	50

MBA: meningitis bacteriana aguda; NBA/NAC: neumonía bacteriana aguda/neumonía adquirida en la comunidad.

<sup>a</sup> Otros: conjuntivitis y otitis.

### Análisis estadístico

Este estudio se limita a la descripción de los datos y no incluye ningún análisis estadístico inferencial. Se realizaron los cálculos de proporciones de frecuencias absolutas y de porcentaje junto con sus correspondientes intervalos de confianza de 95%. Las variables analizadas fueron grupos de edad (menores de 2 años, de 2 a 9 años, 10 a 19 años, 20 a 29 años, 30 a 39 años, 40 a 49 años, 50 a 59 años y mayores de 60 años), código de identificación de la muestra, tipo de muestra, fecha de toma de muestra, diagnóstico, microorganismo (confirmado fenotípica o genotípicamente como compatible con *H. influenzae*), serotipo de *H. influenzae* (a, b, c, d, e, f, HiNT), biotipos (I, II, III, IV, V, VI, VII y VIII), sensibilidad a ampicilina, ceftriaxona, cefuroxima, trimetoprim-sulfametoxazol, cloranfenicol, rifampicina y producción de betalactamasa. Se agruparon los datos en periodo prevacunal (1999–2003) y periodo posvacunal (2004–2017).

El análisis de los datos se realizó con el programa EPI-Info versión 7.2.

### Asuntos éticos

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación del Laboratorio Central de Salud Pública (CEI), dictamen n.º 112/2019. No se obtuvo declaración de consentimiento informado debido a que el estudio es observacional, con riesgo mínimo o nulo para los sujetos y abarcó un periodo muy largo durante el cual fue imposible recoger los consentimientos informados de todos los sujetos del estudio. La confidencialidad de los datos que consignan a la persona, se respetó en todo momento y únicamente los investigadores pudieron acceder a los datos referidos.

### Resultados

Durante el periodo comprendido entre 1999 y 2017 se estudiaron por técnicas microbiológicas convencionales y reacción en cadena de la polimerasa un total de 523 aislados de *H. influenzae*

precedentes de enfermedad invasiva (473/523) y no invasiva (50/523) en todos los grupos de edades. La distribución por grupos de edades fue: 48,4% en menores de 2 años; 24,47% de 2 a 9 años; 3,63% de 10 a 19 años; 2,87% de 30 a 39 años; 2,1% de 40 a 49 años; 4,58% de 50 a 60 años y 10,32% en mayores de 60 años. En general, el 65,77% de los aislados (344/523) correspondieron a niños menores de 5 años y el 34,23% (179/523) a mayores de 5 años. El 88,6% de los casos de meningitis bacteriana aguda, el 70,8% de las sepsis y el 50,9% de las neumonías se produjeron en niños menores de 5 años. Se recogieron también 50/523 (9,56%) casos de enfermedad no invasiva (conjuntivitis y otitis) en el conjunto de la muestra (ver [tabla 1](#)).

El serotipo que se aisló con mayor frecuencia fue HiNT con 51,8% (271/523), seguido de Hib con 43% (225/523), 1,5% de Hia y Hif (8/523) respectivamente, 1% de Hic (5/523), 0,8% de Hie (4/523) y 0,4% de Hid (2/523).

En referencia a la enfermedad invasiva (meningitis, neumonía y sepsis) el 48,4% (229/473) estuvo causada por aislamientos de HiNT, el 46,1% (218/473) por Hib, el 1,7% (8/473) por Hif, el 1,1% (5/473) por Hic, el 0,6% (3/473) por Hie y el 0,4% (2/473) por Hid. En cuanto a la enfermedad no invasiva (conjuntivitis y otitis), HiNT se halló en el 84% (42/50) de los casos, Hib en el 14% (7/50), Hia en el 1% (8/50) e Hie en el 2% (1/50).

El serotipo a se asoció principalmente con neumonías, en 88,89% (8/9) de los casos, Hib con meningitis en 46,42% (104/224), Hic, Hid, Hie y Hif con neumonías en 66,67% (4/6), 75% (3/4), 75% (3/4) y 81,82% (9/11), respectivamente. El 63,02% (167/265) de los HiNT se aislaron de pacientes con neumonía, el 15,84% (42/265) en otras enfermedades como conjuntivitis y otitis, el 13,2% (35/265) en meningitis bacteriana aguda y el 7,92% (21/265) en sepsis (ver [tabla 2](#)).

Se determinaron los biotipos de 384 cepas de *H. influenzae*, 350/584 de procesos invasivos y 34/584 de procesos no invasivos, resultando el 29% biotipo I, el 12% biotipo II, el 24% biotipo III, el 13% biotipo IV, el 4% biotipo V, el 7% biotipo VI, el 2% biotipo VII y el 9% biotipo VIII. Las enfermedades invasivas se asociaron con mayor frecuencia al biotipo I (39%) y las enfermedades no invasivas al biotipo III (32%). El biotipo I fue prevalente en el serotipo b en un 70%

**Tabla 2**  
Distribución de serotipos de *Haemophilus influenzae* por diagnóstico en Paraguay (1999-217) (n = 523)

Serotipos	NBA/NAC		MBA		Sepsis		Otros <sup>a</sup>		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
a	8	88,89	0	0	1	11,11	0	0	9	100
b	91	40,63	104	46,43	22	9,82	7	3,13	224	100
c	4	66,67	0	0	2	33,33	0	0	6	100
d	3	75	0	0	1	25	0	0	4	100
e	3	75	0	0	0	0	1	25	4	100
f	9	81,82	1	9,09	1	9,09	0	0	11	100
NST	167	63,02	35	13,21	21	7,92	42	15,85	265	100
Total	285	54,49	140	26,77	48	9,18	50	9,56	523	100

MBA: meningitis bacteriana aguda; NBA/NAC: neumonía bacteriana aguda/ neumonía adquirida en la comunidad; NST: no serotipable.

<sup>a</sup> Otros: conjuntivitis y otitis.

**Tabla 3**  
Distribución de serotipos de *Haemophilus influenzae* en enfermedad invasiva, por grupo de edad en Paraguay (1999 a 2017) (n = 473)

Año de aislamiento	Edad (en años)					
	< 5 años			> 5 años		
	Hib	No b	HiNT	Hib	No b	HiNT
1999	19	0	0	2	0	0
2000	7	0	5	0	1	1
2001	24	0	19	4	0	3
2002	27	0	19	5	0	14
2003	39	0	8	2	0	1
2004	8	0	8	0	0	5
2005	8	0	1	5	0	5
2006	7	0	12	0	0	4
2007	3	0	3	2	1	0
2008	3	1	3	3	0	2
2009	4	1	3	2	1	1
2010	8	1	2	1	0	0
2011	2	2	1	0	0	1
2012	4	1	1	5	0	6
2013	4	3	4	0	2	5
2014	0	0	3	0	0	8
2015	7	3	4	3	2	25
2016	5	4	5	1	0	31
2017	2	1	3	1	3	13
Total	181	17	104	36	10	125

Hib: *Haemophilus influenzae* serotipo b; HiNT: *Haemophilus influenzae* no-tipable; No b: *Haemophilus influenzae* serotipo a, c, d, e, f.

en enfermedad invasiva y el biotipo III fue prevalente en un 96% en aislados no tipificables (HiNT) de enfermedad no invasiva.

El 84% (181/217) de las cepas incluidas entre 1999 y 2017 correspondió a enfermedades invasivas causadas por el serotipo b en menores de 5 años, y la mayor proporción se registró entre los años 2001 y 2003. No se observaron variaciones en el aislamiento del serotipo b en niños mayores de 5 años.

En menores de 5 años las cepas no tipificables se aislaron principalmente en los años 2001, 2002 y 2006. Sin embargo, en los mayores de 5 años el mayor número de aislados se detectaron en los últimos años del estudio (2015, 2016 y 2017) (ver tabla 3).

Del total de los aislados estudiados, el 13% (68/523) fueron betalactamasa positivos y resistentes a la ampicilina, de ellos 36/68 correspondieron a neumonías, 16/68 a meningitis, 9/68 a sepsis y 7/68 a otros casos (conjuntivitis u otitis) y un caso de *H. influenzae* no productor de betalactamasa y ampicilina resistente. En el año 2012 se registró la resistencia más alta (27,80%) (fig. 1). El 17% de los aislados fueron resistentes a trimetoprim-sulfametoxazol y 7,83% a cloranfenicol, mientras que todos los aislados fueron sensibles a ceftriaxona, cefuroxima y a rifampicina.

## Discusión

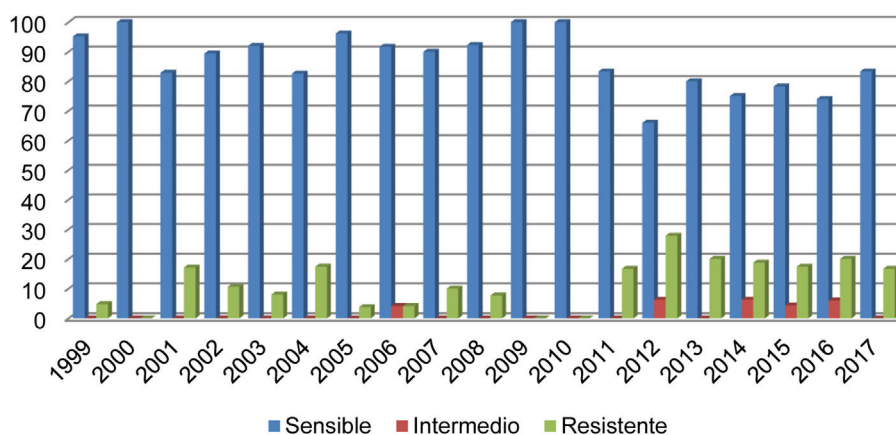
En este estudio se caracterizaron 523 *H. influenzae* procedentes de enfermedad invasiva y no invasiva. Teniendo en cuenta el diagnóstico, las neumonías y las meningitis fueron las más comunes

en niños menores de 5 años y causadas predominantemente por el serotipo b.

La incidencia de Hib en enfermedades invasivas y en portadores sanos ha disminuido drásticamente en los países donde se ha implementado el programa de inmunización nacional<sup>13</sup>. Se conoce muy poco sobre la epidemiología y la importancia clínica de infección por *H. influenzae* invasiva tras la introducción de las vacunas conjugadas frente a Hib. La vacuna conjugada frente a Hib se introdujo en 1987 en Estados Unidos y durante el periodo 1999-2000 la incidencia anual de enfermedad invasiva por Hib en niños menores de 5 años disminuyó en un 99%, lo que corresponde a menos de un caso por 100.000 niños<sup>14</sup>, por lo que, el aumento en la enfermedad causada por los serotipos a, c, d, e y f es ínfimo en comparación con la reducción de la enfermedad causada por Hib. Diversos estudios realizados en Estados Unidos, Canadá, Inglaterra y Gales han mostrado una incidencia creciente de Hib con el tiempo. Hib también ha aumentado en Inglaterra y Gales, siendo el tercer serotipo capsular más común después de Hib y Hib en esos países<sup>15</sup>.

En Paraguay, con la introducción de la vacuna Hib en el año 2004, se observó una reducción de Hib en los casos de enfermedad invasiva en niños menores de 5 años; en cambio para el HiNT, se evidenció un incremento en la frecuencia relativa en el grupo de mayores de 5 años en el año 2016. En otros países de América se han comunicado cambios similares<sup>16,17</sup>.

En la era previa a la vacunación, HiNT no era una causa común conocida de infección invasiva, sin embargo, actualmente es la



**Figura 1.** Sensibilidad (%) de *Haemophilus influenzae* a ampicilina. Evolución anual en Paraguay (1999–2017) (n = 523). Interpretación según criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI): Sensible ( $\leq 1$  mg/L); intermedio (2 mg/L); resistente ( $\geq 4$  mg/L).

causa principal de la enfermedad invasiva en todos los grupos de edad<sup>18</sup>. Si bien los HiNT son una causa bien reconocida de neumonía en adultos, los datos sobre neumonía infantil son limitados<sup>19</sup>. Un estudio realizado en Inglaterra y Gales encontró entre el año 2000 y 2013, 1.585 casos de infección invasiva por *H. influenzae* en niños de 1 mes a 10 años, donde HiNT causó 31–51 casos por año (0,53–0,92/100.000)<sup>20</sup>. HiNT se reconoce cada vez más como patógeno emergente. La inmunización de rutina de los bebés con vacunas conjugadas frente a Hib ha producido un marcado cambio en el serotipo invasivo predominante de Hib a HiNT<sup>21</sup>.

Los otros serotipos de *H. influenzae* (a, c, d, e y f) se aislaron con menor frecuencia. El serotipo f fue el tercero en importancia y el serotipo e resultó ser el menos frecuente. Según algunos estudios, los serotipos e y f no han aumentado después de las campañas de vacunación, más bien aparecen como infecciones oportunistas en adultos con alguna enfermedad de base<sup>22</sup>. El serotipo a se aisló con una frecuencia del 1,72%. Como la mayoría de los casos de Hia corresponden a enfermedades esporádicas, los informes publicados no siempre son consistentes en sus hallazgos. Las tasas de incidencia más altas de enfermedades invasivas por Hia se han encontrado en algunas poblaciones indígenas, como los indios norteamericanos e inuit de Alaska y norte de Canadá, llegando al orden de magnitud de las tasas de incidencia de Hib en la era prevacunación<sup>1</sup>. En Brasil, la vigilancia pasiva mostró que Hib representó el 59% de los aislamientos por meningitis, Hia el 14%, Hif el 2,90% y HiNT aumentó del 2% a 22% en el periodo posvacunal<sup>23</sup>.

Durante el periodo de este estudio se evidenció una prevalencia del biotipo i en el serotipo b. En niños, el biotipo i y el serotipo b se asocian comúnmente con meningitis, los biotipos II y III se asocian comúnmente con infecciones del tracto respiratorio y los HiNT con biotipo IV<sup>4</sup>. Estudios previos realizados en Dinamarca, Noruega, Europa Occidental y Estados Unidos habían demostrado que el biotipo i explica la mayoría de las meningitis por *H. influenzae* (96%) y predominó en niños menores de 10 años<sup>24</sup>. En Estados Unidos, el 95% de los aislados de *H. influenzae* invasivos son del serotipo b y biotipo I. En Europa Occidental, solo los biotipos I y II prevalecen en la mayoría de los países, aunque también se han detectado biotipos III, IV y V. Los serotipos a y c están asociados con biotipos I y IV, respectivamente, mientras que en los aislados de HiNT, predominan los biotipos II y III. En Brasil se demostró que el 51% de las cepas pertenecían al biotipo I, el 2% al biotipo III, el 31% al biotipo IV, el 2% al biotipo V, el 7% al biotipo VI y el 7% al biotipo VIII<sup>25</sup>. En Argentina, se determinó el biotipo en 306 aislados, de los cuales todos los aislamientos de tipo Hia correspondieron al biotipo II, y el 66,7% de Hib pertenecieron al biotipo I<sup>26</sup>. En Cuba, un estudio encontró constante la presencia

de los biotipos I y II en los periodos pre- y posvacunal y la aparición de aislados de Hib biotipo VIII, no notificado en el periodo prevacunación<sup>27</sup>.

La resistencia a ampicilina encontrada en este estudio fue del 13%. Se han observado datos similares en América Latina y en el Caribe<sup>28</sup>. La resistencia en Europa y América del Norte varían del 8% al 30%, llegando a más del 50% en algunos países del este de Asia<sup>29</sup>. Los aislados resistentes a ampicilina betalactamasa negativos con modificaciones en la PBP3 pueden mostrar una sensibilidad disminuida tanto a las aminopenicilinas como a algunas cefalosporinas<sup>30</sup>. En este estudio no se encontró resistencia a las cefalosporinas evaluadas.

Una limitación de este estudio se debe a que como es una revisión retrospectiva, se encontraron algunos datos incompletos. Sin embargo, su fortaleza es que estos datos se recopilaban durante un periodo de tiempo prolongado en el Laboratorio de Referencia Nacional, donde se reciben con frecuencia estos aislados para su análisis y confirmación.

Podemos concluir que es necesaria una vigilancia continua para monitorizar la eficacia de la vacuna frente a Hib y para detectar cualquier tipo capsular invasivo emergente en todos los grupos de edad y presentaciones clínicas para así poder desarrollar intervenciones preventivas.

## Financiación

La presente investigación no ha recibido ninguna beca específica de agencias de los sectores público, comercial, o sin ánimo de lucro.

## Conflicto de intereses

Ninguno.

## Agradecimientos

La realización de este trabajo fue apoyada por subvenciones del Fondo para la convergencia estructural del Mercosur (FOCEM)-Mercosur, convenio FOCEM N.º 03/11 Proyecto «Investigación, Educación y Biotecnologías Aplicadas a la Salud» (COF 03/11).

## Anexo. Material adicional

Se puede consultar material adicional a este artículo en su versión electrónica disponible en [doi:10.1016/j.eimc.2020.02.020](https://doi.org/10.1016/j.eimc.2020.02.020)

## Bibliografía

- Ulanova M. Global epidemiology of invasive *Haemophilus influenzae* type a disease: Do we need a new vaccine? *J Vaccines*. 2013;2013:1–14. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/941461>.
- Sakata H, Adachi Y, Morozumi M, Ubukata K. Invasive *Haemophilus influenzae* infections in children in Kamikawa subprefecture, Hokkaido Japan, 2006–2015: The effectiveness of *H. influenzae* type b vaccine. *J Infect Chemother*. 2017;23:459–62. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiac.2017.03.019>.
- Wang S, Tafalla M, Hanssens L, Dolhain J. A review of *Haemophilus influenzae* disease in Europe from 2000–2014: Challenges, successes and the contribution of hexavalent combination vaccines. *Expert Rev Vaccines*. 2017;16:1095–105. <http://dx.doi.org/10.1080/14760584.2017.1383157>.
- Cardoso MP, Pasternak J, Giglio AE, Casagrande RR, Troster EJ. Meningitis due to *Haemophilus influenzae* type f. Einstein (Sao Paulo). 2013;11:521–3. <http://dx.doi.org/10.1590/S1679-45082013000400020>.
- Puig C, Grau I, Marti S, Tubau F, Calatayud L, Pallares R, et al. Clinical and molecular epidemiology of *Haemophilus influenzae* causing invasive disease in adult patients. *PLoS One*. 2014;9:e112711. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0112711>.
- Wahl B, O'Brien KL, Greenbaum A, Majumder A, Liu L, Chu Y, et al. Burden of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* type b disease in children in the era of conjugate vaccines: Global, regional, and national estimates for 2000–15. *Lancet Glob Health*. 2018;6:e744–57. [http://dx.doi.org/10.1016/S2214-109X\(18\)30247-X](http://dx.doi.org/10.1016/S2214-109X(18)30247-X).
- Greenhill AR, Phuanukoonnon S, Michael A, Yoannes M, Orami T, Smith H, et al. *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* in paediatric meningitis patients at Goroka General Hospital Papua New Guinea: Serotype distribution and antimicrobial susceptibility in the pre-vaccine era. *BMC Infectious Diseases*. 2015;15:485. <http://dx.doi.org/10.1186/s12879-015-1197-0>.
- Davis S, Feikin D, Johnson HL. The effect of *Haemophilus influenzae* type B and pneumococcal conjugate vaccines on childhood meningitis mortality: A systematic review. *BMC Public Health*. 2013;13:S21. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2458-13-S3-S21>.
- Van Eldere J, Slack MP, Ladhani S, Cripps AW. Non-typeable *Haemophilus influenzae*, an under-recognised pathogen. *Lancet Infect Dis*. 2014;14:1281–92. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70734-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70734-0).
- Cherkaoui A, Diene SM, Emonet S, Renzi G, Francois P, Schrenzel J. Ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* isolates in Geneva: Serotype, antimicrobial susceptibility, and  $\beta$ -lactam resistance mechanisms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2015;34:1937–45. <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-015-2435-5>.
- Falla TJ, Crook DWM, Brophy LN, Maskell D, Kroll JS, Moxon ER. PCR for capsular typing of *Haemophilus influenzae*. *J Clin Microbiol*. 1994;32:2382–6.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). En: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-fourth Informational Supplement. CLSI document M100-S27. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute; 2017.
- Zanella RC, Brandileone MC, Andrade AL, Ogassavara CT, Fiório CE, Brandão AP, et al. Evaluation of *Haemophilus influenzae* type b carrier status among children 10 years after the introduction of Hib vaccine in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2015;110:755–9. <http://dx.doi.org/10.1590/0074-02760150140>.
- Centers for Disease Control and Prevention. Prevention and Control of *Haemophilus influenzae* type b Disease: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). 2014; 63:1–14 [acceso 6 Feb 2019]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr6301a1.htm>.
- Wan Sai Cheong J, Smith H, Heney C, Robson J, Schlebusch S, Fu J, et al. Trends in the epidemiology of invasive *Haemophilus influenzae* disease in Queensland Australia from 2000 to 2013: What is the impact of an increase in invasive non-typable *H. influenzae* (NTHi)? *Epidemiol Infect*. 2015;143:2993–3000. <http://dx.doi.org/10.1017/S0950268815000345>.
- Rodríguez MR, Agudelo CI, Duarte C. Aislamientos invasivos de *Haemophilus influenzae* en menores de 5 años: distribución de los serotipos y de la sensibilidad antimicrobiana, SIREVA II, Colombia 2002–2013. *Infectio*. 2015;19:67–74. <http://dx.doi.org/10.1016/j.infect.2014.12.005>.
- Desai S, Jamieson FB, Patel SN, Seo CY, Dang V, Fediurek J, et al. The epidemiology of invasive *Haemophilus influenzae* non-serotype B disease in Ontario, Canada from 2014 to 2013. *PLoS One*. 2015;10:e0142179. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0142179>.
- Whittaker R, Economopoulou A, Dias JG, Bancroft E, Ramlidem M, Pastore Celentano L, et al. Epidemiology of Invasive *Haemophilus influenzae* disease, Europe, 2007–2014. *Emerg Infect Dis*. 2017;23:396–404. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2303.161552>.
- Slack MPE. A review of the role of *Haemophilus influenzae* in community-acquired pneumonia. *Pneumonia*. 2015;6:21–43. <http://dx.doi.org/10.15172/pneu.2015.6/520>.
- Collins S, Vickers A, Ladhani SN, Flynn S, Platt S, Ramsay ME, et al. Clinical and molecular epidemiology of childhood invasive nontypeable *Haemophilus influenzae* disease in England and Wales. *Pediatric Infect Dis J*. 2016;35:e76–84 [consultado 24 Jun 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26569188>.
- Cerquetti M, Gufirè M. Why we need a vaccine for non-typeable *Haemophilus influenzae*. *Hum Vaccin Immunother*. 2016;12:2357–61. <http://dx.doi.org/10.1080/21645515.2016.1174354>.
- Hammit L, Crane RJ, Karani A, Mutuku A, Morpeth SC, Burbidge P, et al. Effect of *Haemophilus influenzae* type b vaccination without a booster dose on invasive *H influenzae* type b disease, nasopharyngeal carriage, and population immunity in Kilifi, Kenya: A 15-year regional surveillance study. *Lancet Glob Health*. 2016;4:e185–94. [http://dx.doi.org/10.1016/S2214-109X\(15\)00316-2](http://dx.doi.org/10.1016/S2214-109X(15)00316-2).
- Tsang RS, Bruce MG, Lem M, Barreto L, Ulanova M. A review of invasive *Haemophilus influenzae* disease in the Indigenous populations of North America. *Epidemiol Infect*. 2014;142:1344–54. <http://dx.doi.org/10.1017/S0950268814000405>.
- Abdulhasan GA, Sabbah MA, Jsem KA, Hassani HH. Identification and typing of *Haemophilus influenzae* in Iraqi children diagnosed with meningitis. *Int J Microbiol Res*. 2013;5:417–23. <http://dx.doi.org/10.9735/0975-5276.5.3.417-423>.
- Lancellotti M, de Pace F, Guedes Stehling E, Barisson Villares MC, Brocchi M, Dias da Silveira W. Ribotyping, biotyping and capsular typing of *Haemophilus influenzae* strains isolated from patients in Campinas, Southeast Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2008;12:430–7. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-86702008000500015>.
- Efron AM, Moscoloni MA, Reijtman VR, Regueira M. Vigilancia de serotipos en infecciones invasivas por *Haemophilus influenzae* en la Argentina en la era de la vacuna conjugada contra el serotipo b durante el período 2005–2010. *Rev Argent Microbiol*. 2013;45:240–7. [http://dx.doi.org/10.1016/S0325-7541\(13\)70030-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0325-7541(13)70030-0).
- Toraño G, Menéndez D, Llop A, Dickinson F, Varcárcel M, Abreu M, et al. *Haemophilus influenzae*: Caracterización de aislamientos recuperados de enfermedades invasivas en Cuba durante el período 2008–2011. *Vaccinmonitor* [Internet]. 2012;21:26–31. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci.arttext&pid=S1025-028X2012000300005&Ing=es>.
- Organización Panamericana de la Salud. Informe Regional de SIREVA II, 2015. Datos por país y por grupos de edad sobre las características de los aislamientos de *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Neisseria meningitidis* en procesos invasores. Documentos técnicos. Regulaciones Sanitarias Internacionales, Alerta y Respuesta y Enfermedades Epidémicas (HSD/IR). Washington, D.C.: OPS; 2015.
- Resman F, Ristovski M, Forsgren A, Kaijser B, Kronvall G, Medstrand P, et al. Increase of  $\beta$ -lactam-resistant invasive *Haemophilus influenzae* in Sweden, 1997 to 2010. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:4408–15. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00415-12>.
- García-Cobos S, Campos J, Cercenado E, Román F, Lázaro E, Pérez-Vázquez M, et al. Antibiotic resistance in *Haemophilus influenzae* decreased, except for beta-lactamase-negative amoxicillin-resistant isolates, in parallel with community antibiotic consumption in Spain from 1997 to 2007. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52:2760–6. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.01674-07>.