



BOLETIN

Instituto de Salud Pública de Chile

Vol. 4, No. 8, Agosto 2014.

Vigilancia de laboratorio enfermedad invasora *Haemophilus influenzae* 2007-2014

1. Antecedentes

Haemophilus influenzae (Hi), es un cocobacilo gramnegativo (1 μm x 0.3 μm), pleomórfico, inmóvil, no formador de esporas, anaerobio facultativo y fastidioso pues requiere para su desarrollo in vitro, factores de crecimiento denominados hemina (factor X) y dinucleotido nicotina adenina (NAD o factor V). (1) La nomenclatura; (*Haemophilus* en griego significa "atracción, amor por la sangre") reconoce el hecho de que estos factores están presentes en los eritrocitos, los que se liberan después de la lisis. (2)

Este agente en base al antígeno polisacárido de su cápsula, se clasifica en seis serotipos antigénicamente distintos: a, b, c, d, e y f. (3) Existen cepas de Hi que no poseen cápsula y se denominan *H. influenzae* no capsuladas o no tipificables (NTHi). (2)

H. influenzae serotipo b (Hib), fue la causa principal de meningitis bacteriana en niños pequeños en todo el mundo antes de que la vacuna conjugada Hib estuviera disponible a finales de 1980.

Las infecciones causadas por NTHi sugieren la sustitución de cepas en el nicho ecológico que se hizo disponible para la colonización con cepas no-Hib. Aunque se ha reconocido en muchos países la tendencia hacia un aumento en la incidencia de enfermedad grave causada por NTHi, también se ha reportado un incremento de *H. influenzae* serotipo a (Hia), en poblaciones específicas. En el Programa de Monitoreo de Inmunización de Canadá, la tasa de letalidad por

enfermedad invasora Hia en casos pediátricos reportados alcanzó el 16% entre los años 1996–2001. (4)

El descubrimiento de Hi se atribuye a Pfeiffer en 1892, durante la pandemia de influenza. En un esfuerzo por descubrir la causa del brote mundial, se analizaron muestras de tejido pulmonar, aislándose Hi. La especie aislada accidentalmente fue denominada "influenzae". Posteriormente en 1933 se descubrió el virus de la gripe humana causante de la pandemia.(1)

Las enfermedades invasoras más frecuentes por Hi capsuladas son: bacteriemia, meningitis, epiglotitis, celulitis y artritis infecciosa. Las cepas no capsuladas o NTHi generalmente pueden causar infecciones mucosas, incluyendo otitis media, conjuntivitis, sinusitis, bronquitis y neumonía. (2)

El único reservorio conocido es el hombre. La colonización asintomática por cepas de Hi no capsuladas es bastante frecuente (50% de la población), pero es rara en cepas capsuladas. (5)

El mecanismo de transmisión es de persona a persona a través de gotitas respiratorias transportadas por el aire, por contacto directo con secreciones respiratorias o a través del contacto con objetos contaminados recientemente. (6) El periodo de incubación no se conoce con exactitud, pero se considera entre 2-4 días. (7)

Los factores de virulencia en Hi están compuestos principalmente por su cápsula polisacárida, que impide la fagocitosis, asociada a otros factores que permiten la adherencia a la célula huésped. Hi no activa la vía alternativa del complemento, y por lo tanto son capaces de evadir la respuesta inmune del huésped. Las cepas no capsuladas tienen proteínas de superficie celular, fimbrias y pili que poseen un rol en la adherencia a la célula huésped. (1)

Los factores de riesgo incluyen a personas con compromiso de su estado inmunitario como asplenia, infección por VIH, síndromes de deficiencia inmunológicos, quimioterapia, radioterapia, anemia falciforme y receptores de trasplante. (8)

Los grupos etarios más afectados por este agente (enfermedad invasora) son los niños menores de 5 años (y de ellos los menores de 18 meses) y la población mayor de 65 años. (5) En cuanto a género, los hombres se infectan con mayor frecuencia pero las diferencias no son estadísticamente significativas. (9)

Diagnóstico de Laboratorio

Las tareas de laboratorio que impliquen aislamientos de *Haemophilus* requieren prácticas de bioseguridad nivel 2, ya que este organismo representa un peligro potencial para el personal de laboratorio y el medio ambiente de trabajo que lo rodea.

El medio estándar para cultivar *Haemophilus spp.* es agar chocolate con factores de crecimiento (factores X y V). La temperatura óptima es 35°C, pH 7,6 y condiciones atmosféricas de 5% de CO₂. (1)

Las colonias de Hi son redondas, lisas, convexas, no hemolíticas, incoloras o grises. Las cepas capsuladas son más mucosas que las cepas no capsuladas, siendo estas últimas de coloración grisácea, pequeñas y compactas. (8)

Las pruebas de identificación básica para Hi corresponden a: tinción de Gram (cocobacilos gramnegativos), prueba de oxidasa (positiva) y requerimiento de factores de crecimiento como hemina y NAD. (6)

La serotipificación permite la diferenciación de las cepas capsuladas. Las cepas no capsuladas no pueden ser serotipificadas. Los seis serotipos capsulares se pueden identificar con antisueros tipo-específico. (10)

El estudio de susceptibilidad a los antimicrobianos debe ser realizado de manera estandarizada de acuerdo a las recomendaciones del CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) y la interpretación de los resultados debe efectuarse de acuerdo a las tablas vigentes provistas por el CLSI. (8)

La primera vacuna para Hib fue autorizada en 1985 y en el año 2012 la inmunización contra Hib ya había sido introducida en programas de 184

países; en las Américas la cobertura global con 3 dosis se estimó en 45 % en 2012, pero sólo en un 11% y 14% en Asia suroriental y en la Región del Pacífico Occidental, respectivamente. (12)

En Chile la enfermedad invasora por Hib, hasta la década de los 80 causaba aproximadamente el 70% de las meningitis bacterianas agudas y era la segunda causa de neumonía bacteriana del lactante. La incidencia anual de infección en Santiago en ese entonces, correspondía a 43 por 100.000 menores de 5 años y el 80% de estas infecciones ocurrían en menores de 18 meses de edad.

La vacuna conjugada anti-Hib se introdujo en Chile en 1996 con un esquema de 3 dosis (2-4-6 meses) y fue considerada una de las intervenciones más trascendentes en Salud Pública de los últimos años. En el mismo año se inició la vigilancia epidemiológica de las infecciones invasoras por Hib en población menor de 5 años de edad, evidenciándose una disminución de un 60% de los casos desde 1996 a 2006. (13)

Estudios nacionales y extranjeros confirman que el uso de esta vacuna constituye una intervención altamente efectiva, logrando una protección, con esquema de tres dosis, superior al 90% para infecciones invasoras. Sin embargo, en el panorama mundial Hib es aún responsable de la muerte de 300.000 a 400.000 niños al año, las que ocurren principalmente en países que carecen de un programa de inmunizaciones adecuado. (14)

En Chile, según el Decreto Supremo (DS.) Nº 158, la enfermedad invasora por Hi, es de notificación universal, obligatoria e inmediata. Además, se especifica que este agente está sujeto a vigilancia de laboratorio para la resistencia de los antimicrobianos, motivo por el cual los laboratorios públicos y privados que identifiquen este agente en enfermedad invasora, deben notificar y enviar las cepas al Instituto de Salud Pública de Chile (ISP), donde se realizará confirmación de laboratorio, serotipificación y vigilancia de resistencia a antibióticos.

2. Materiales y métodos

Se analizaron todas las cepas de Hi confirmadas por el ISP en el periodo comprendido entre enero de 2007 y junio de 2014.

La identificación microbiológica de las cepas y la serotipificación por aglutinación en lámina con antisueros específicos, fueron realizadas de acuerdo a las recomendaciones de la Red SIREVA-OPS. Las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana fueron realizadas por epsilometría (ampicilina, cloranfenicol, ceftriaxona/cefotaxima y rifampicina) y difusión en disco (ciprofloxacino y meropenem) de acuerdo a los estándares y criterios de interpretación CLSI vigentes para cada año.

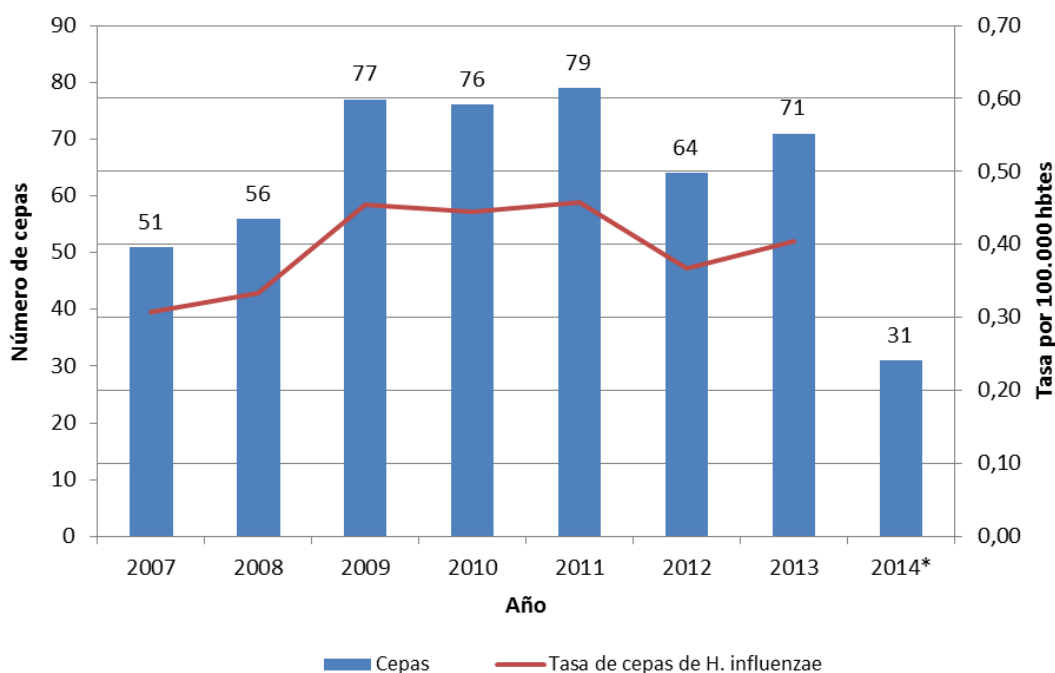
Los datos obtenidos mediante la vigilancia de laboratorio se capturaron y procesaron en el paquete Excel 2010 y el software estadístico Stata 11. Para el análisis de las cepas se depuró la base de modo de asegurar que los análisis correspondan a casos. Los resultados se representaron en tablas y gráficos para su mejor comprensión.

3. Resultados vigilancia de *Haemophilus influenzae* 2007 – 2014.

Entre enero de 2007 y junio de 2014, se han confirmado un total de 505 cepas de Hi aisladas de enfermedad invasora. Durante el año 2014 (enero a junio) se han confirmado 31 cepas, mientras que en el mismo periodo del año 2013 se confirmaron 22, lo que representa un aumento del 40,9%.

La Figura 1, muestra el número de cepas y la tasa por 100.000 habitantes de cepas confirmadas con Hi por año del periodo en estudio. El año con el mayor número de cepas fue el 2011, con 79 cepas.

Figura 1. Número de cepas de *Haemophilus influenzae* aislado de enfermedad invasora y tasa por 100.000 habitantes, por año. Chile 2007 - 2014*.



*Datos hasta Junio 2014.

Fuente: Laboratorio Meningitis Bacterianas. Instituto de Salud Pública de Chile. 2014.

Del total de cepas confirmadas en el periodo de estudio, el 66,3% procedían de la Región Metropolitana, el 5,1% de la región del Biobío y 5,1% de Los Lagos.

De las cepas de Región Metropolitana, el 20% provenían de laboratorios privados y el 16,1% del Servicio de Salud Metropolitano Sur (Tabla 1).

Tabla 1. Número de cepas de *Haemophilus influenzae* aislado de enfermedad invasora por Región y Servicio de Salud. Chile 2007-2014*.

Región	Servicio de Salud	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014*	Total	Total Región
Arica y Parinacota	Arica					1				1	1
Tarapacá	Iquique					1				1	1
Antofagasta	Antofagasta			2	4	3	4	1	1	15	19
	Privado	1			1		1	1		4	
Atacama	Atacama	0	0	1	0	0	1	2	0	4	4
Coquimbo	Coquimbo	2	1	2	2	4	3	4	0	18	18
Valparaíso	Aconcagua	0	0	0	0	1	0	1	1	3	25
	Valparaíso-San Antonio	4	1	2	1	1	3	1	1	14	
	Viña del Mar-Quillota	1	2	1	1			1		6	
	Privado	0	0	1	0	0	0	1	0	2	
Metropolitana	Central	2	10	6	4	0	3	3	2	30	335
	Norte	6	9	9	6	8	5	8	1	52	
	Occidente	5	6	4	7	4	5	1	1	33	
	Oriente	3	3	3	5	5	3	5	2	29	
	Sur	7	5	10	8	5	7	9	3	54	
	Sur Oriente	8	4	11	14	5	4	6	1	53	
	Privado	6	4	7	8	17	11	7	7	67	
	Otros	2	1	1	2	5	3	2	1	17	
L. B. O'Higgins	L. B. O'Higgins	1	4	4	1	0	0	1	3	14	15
	Privado	0	0	0	0	1	0	0	0	1	
Maule	Maule	1	2	4	1	3	1	5	0	17	17
Biobío	Biobío			1	1	2	3	1	1	9	26
	Concepción		1		2	3	1	3		10	
	Ñuble					1				1	
	Talcahuano	1			1			1	1	4	
	Privado	0	1	0	0	0	0	0	1	2	
Araucanía	Araucanía norte							1		1	8
	Araucanía sur			2		4	1			7	
Los Ríos	Valdivia				2	3	1	1	1	8	9
	Privado			1						1	
Los Lagos	Reloncaví	1	1	4	3	2	3	3	3	20	26
	Chiloé						1	1		2	
	Osorno		1					1		2	
	Privado				2					2	
Magallanes	Magallanes			1						1	1
Total		51	56	77	76	79	64	71	31		505

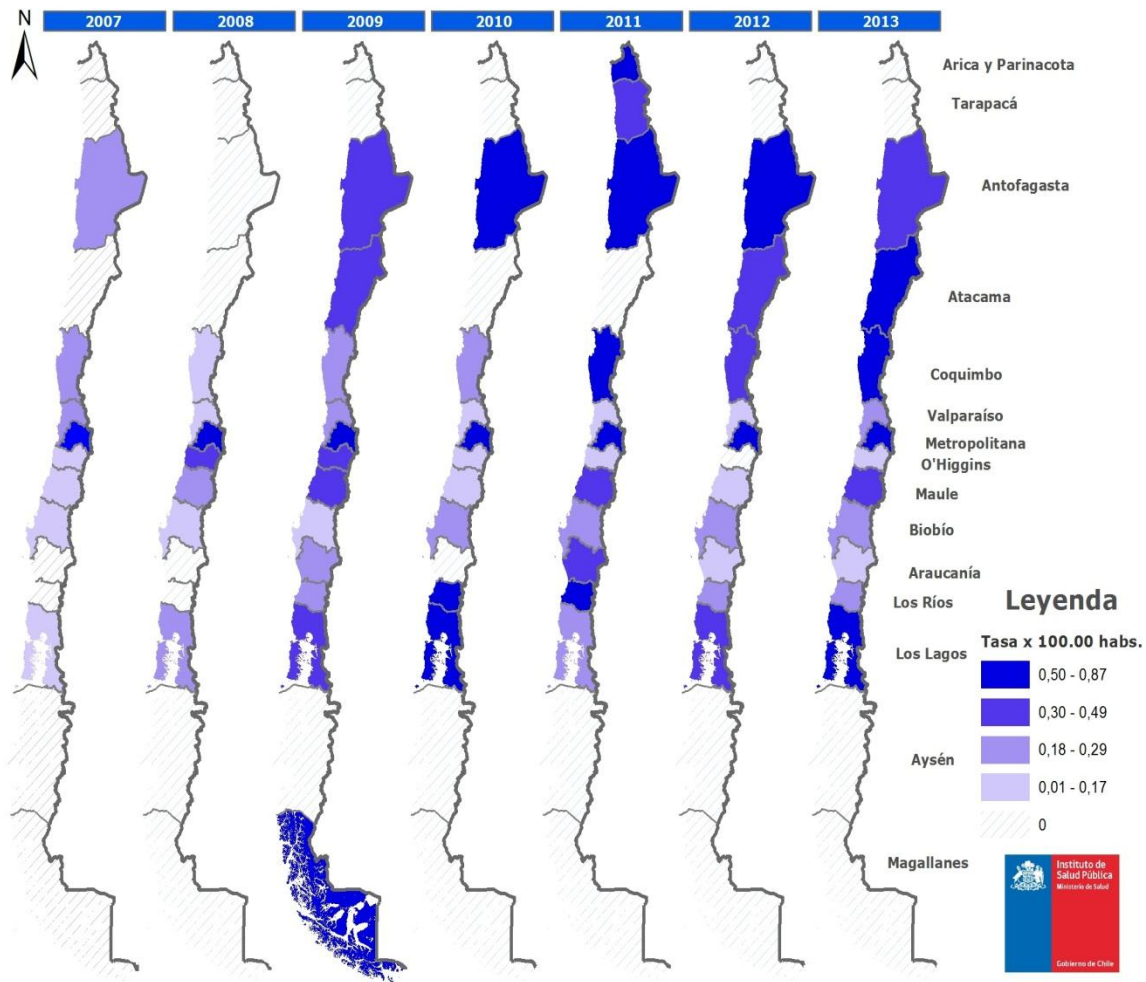
*Datos hasta Junio 2014.

**Otros: Públicos no pertenecientes al Sistema Nacional de Servicios de Salud.

Fuente: Laboratorio Meningitis Bacterianas. Instituto de Salud Pública de Chile. 2014.

La Figura 2 presenta la tasa de incidencia por 100.000 habitantes de Hi por región y año. En el periodo de enero a junio del 2014, las tasas más elevadas se registran en la Región de Los Lagos (0,34 x 100.000 habitantes) y O'Higgins (0,33 x 100.000 habitantes).

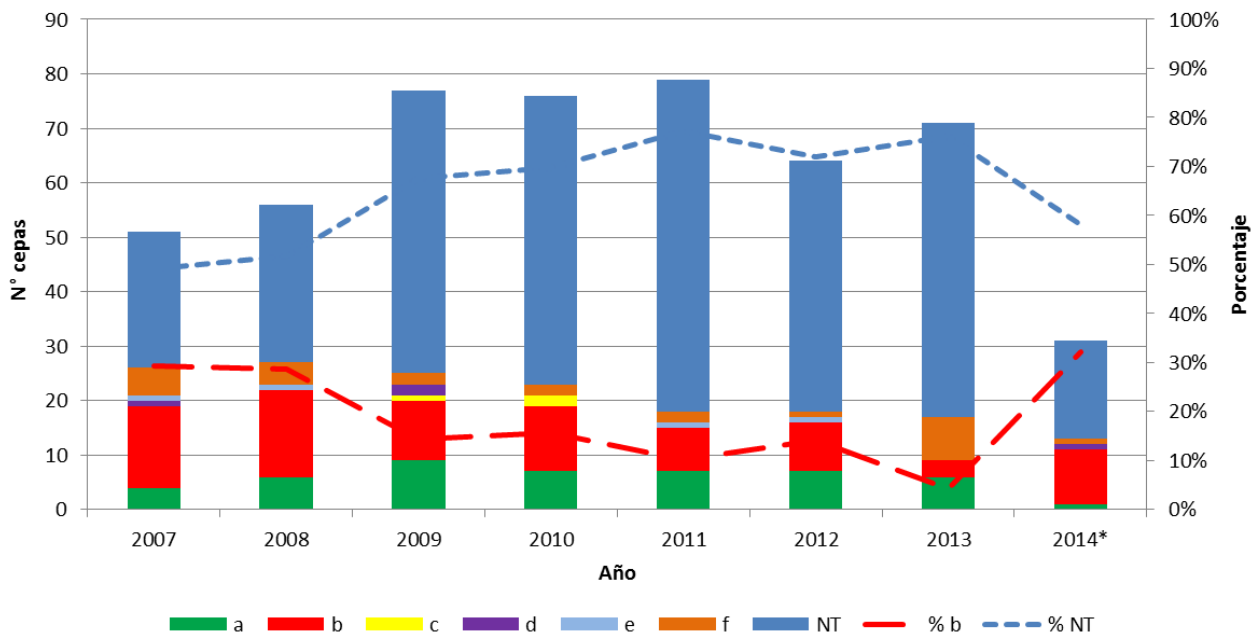
Figura 2. Tasa de incidencia de *Haemophilus influenzae* aislado de enfermedad invasora, por región y año.
Chile 2007 – 2013.



La Figura 3 presenta el número de cepas confirmadas de Hi por serotipo y año. Se observa predominio de cepas no tipificables, las que representan el 67% (338/505) del total del periodo. Las cepas del serotipo b corresponden al 17% (84/505), seguidas por el serotipo a con 9% (47/505) y el serotipo f con 5% (25/505).

Se observa que entre los años 2008 y 2013 se presentó una disminución de las cepas del serotipo b, sin embargo hasta junio del presente año se han confirmado 10 cepas lo que representa un aumento con respecto al año anterior en el cual se confirmaron 2 cepas en el mismo periodo.

Figura 3. Número de cepas de *Haemophilus influenzae* aislado de enfermedad invasora según serotipo y año. Chile 2007 - 2014*.



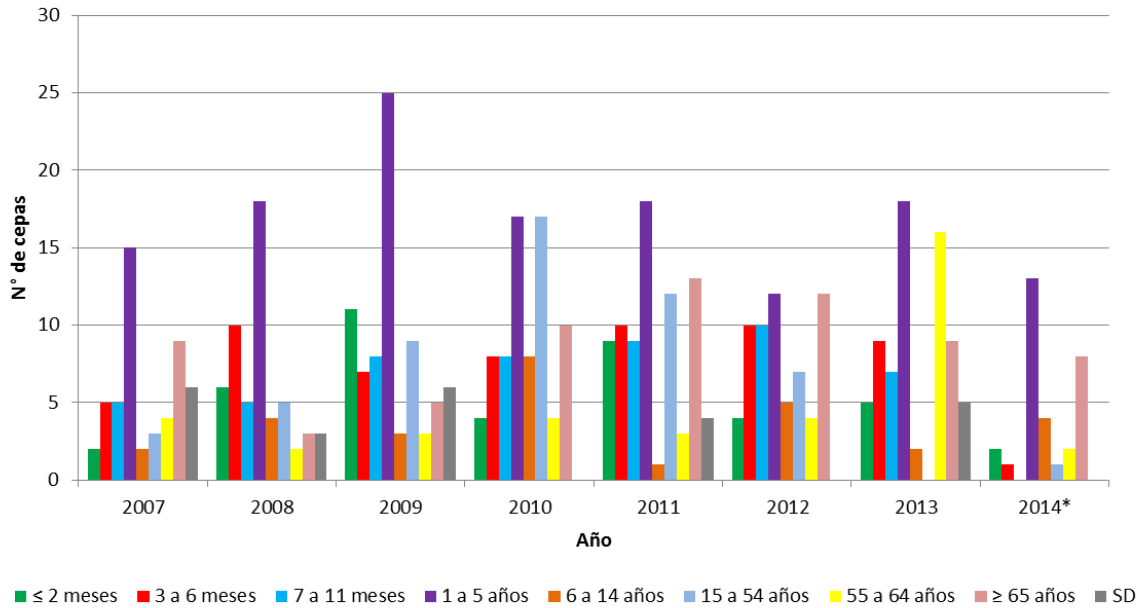
*Datos hasta Junio 2014.

NT: No tipificable

Fuente: Laboratorio Meningitis Bacterianas. Instituto de Salud Pública de Chile. 2014.

La Figura 4, muestra la distribución del número de cepas confirmadas de Hi por grupo de edad. Se observa que durante todo el periodo predominó el grupo etario de 1 a 5 años, excepto en el año 2010 en el cual los grupos de 1 a 5 y de 15 a 54 años tuvieron el mismo número de cepas confirmadas (17). En el año 2013 se presentó un aumento en el número de cepas correspondientes al grupo de 55 a 64 años (16).

Figura 4. Número de cepas de *Haemophilus influenzae* aislado de enfermedad invasora según grupo etario y año. Chile 2007 - 2014*.



*Datos hasta Junio 2014.

SD: Sin Dato

Fuente: Laboratorio Meningitis Bacterianas. Instituto de Salud Pública de Chile. 2014.

En el periodo enero 2009 a junio 2014 se analizó la susceptibilidad de todas las cepas confirmadas de Hi a distintos antimicrobianos.

La Tabla 2 presenta el número de cepas analizadas por año y el porcentaje de cepas sensibles, intermedias y resistentes, para cada uno de los antimicrobianos.

Los valores de resistencia a ampicilina variaron entre el 13% en el 2014 y 27% en el año 2010, y los valores para cloranfenicol variaron entre el 0% en el 2014 y 6% para el año 2009.

El 100% de las cepas fueron sensibles a ceftriaxona/cefotaxima, meropenem y ciprofloxacino. Este último antibiótico junto a rifampicina son usados para la profilaxis de contactos.

Tabla 2. Susceptibilidad a antimicrobianos en cepas de *Haemophilus influenzae* aislado de enfermedad invasora. Chile 2009 -2014*.

Año	n	Ampicilina			Cloranfenicol			Ceftriaxona/ Cefotaxima		Meropenem		Ciprofloxacino		Rifampicina		
		S	I	R	S	I	R	S	R	S	R	S	R	S	I	R
2009	77	71%	4%	25%	94%	0%	6%	100%	0%	100%	0%	100%	0%	100%	0%	0%
2010	76	70%	3%	27%	87%	8%	5%	100%	0%	100%	0%	100%	0%	100%	0%	0%
2011	79	72%	1%	27%	94%	4%	2%	100%	0%	100%	0%	100%	0%	99%	1%	0%
2012	64	81%	3%	16%	95%	0%	5%	100%	0%	100%	0%	100%	0%	100%	0%	0%
2013	71	83%	1%	16%	99%	0%	1%	100%	0%	100%	0%	100%	0%	100%	0%	0%
2014*	31	87%	0%	13%	97%	3%	0%	100%	0%	100%	0%	100%	0%	100%	0%	0%

*Datos hasta Junio 2014.

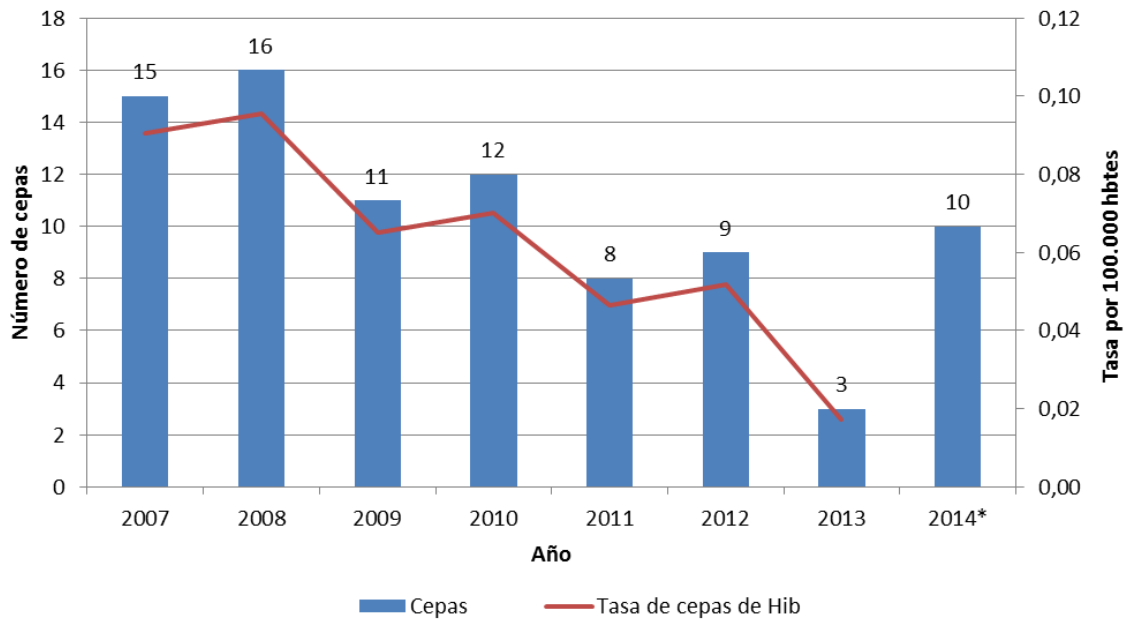
S: Sensible, R: Resistente, I: Intermedio

Fuente: Laboratorio Meningitis Bacterianas. Instituto de Salud Pública de Chile. 2014.

***Haemophilus influenzae* tipo b (Hib)**

La Figura 5, muestra el número de cepas y la tasa por 100.000 habitantes de cepas de Hib por año del periodo en estudio. El año con el mayor número (16) de cepas confirmadas fue el 2008, lo que representa una tasa de 0,10 por 100.000 habitantes.

Figura 5. Número de cepas de *Haemophilus influenzae* tipo b aislado de enfermedad invasora y tasa por 100.000 habitantes, por año. Chile 2007 - 2014*.

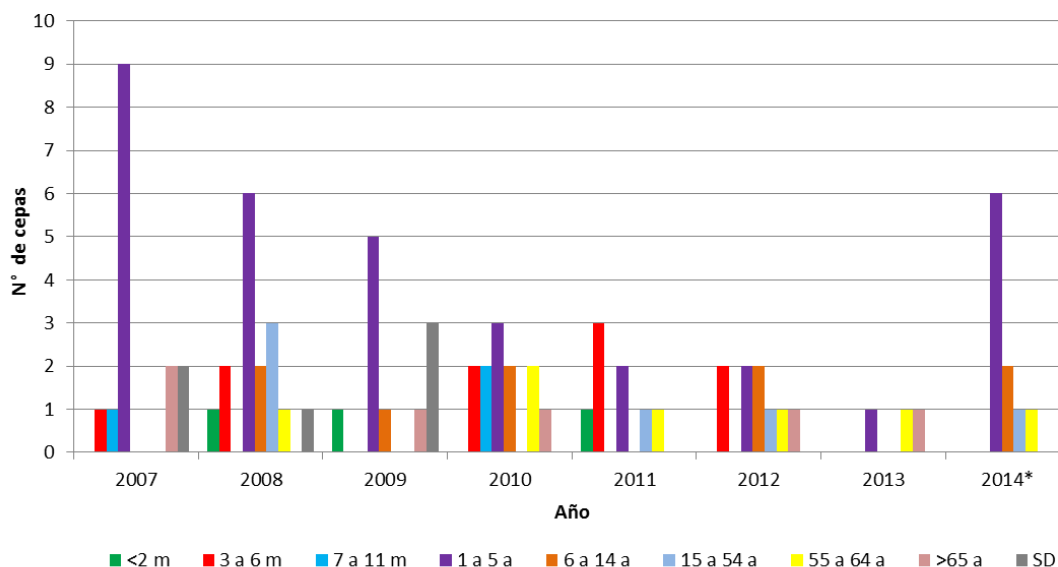


*Datos hasta Junio 2014.

Fuente: Laboratorio Meningitis Bacterianas. Instituto de Salud Pública de Chile. 2014.

La Figura 6, muestra la distribución del número de cepas confirmadas de Hib por grupo de edad. Se observa una disminución de cepas confirmadas en el grupo de 1 a 5 años entre el 2008 y 2013, sin embargo entre enero y junio del 2014 se ha presentado un aumento de las cepas correspondientes a este grupo etario.

Figura 6. Número de cepas de *Haemophilus influenzae* tipo b aislado de enfermedad invasora según grupo etario y año. Chile 2007 - 2014*.



*Datos hasta Junio 2014.

SD: Sin Dato

Fuente: Laboratorio Meningitis Bacterianas. Instituto de Salud Pública de Chile. 2014.

El 57% de las cepas de Hib confirmadas en el periodo, procedían de la Región Metropolitana, 10,7% de la Región del Biobío y 7,1% de la Región de Los Lagos. (Tabla 3).

Tabla 3. Número de cepas de *Haemophilus influenzae* tipo b aislado de enfermedad invasora por Región. Chile 2007 -2014*.

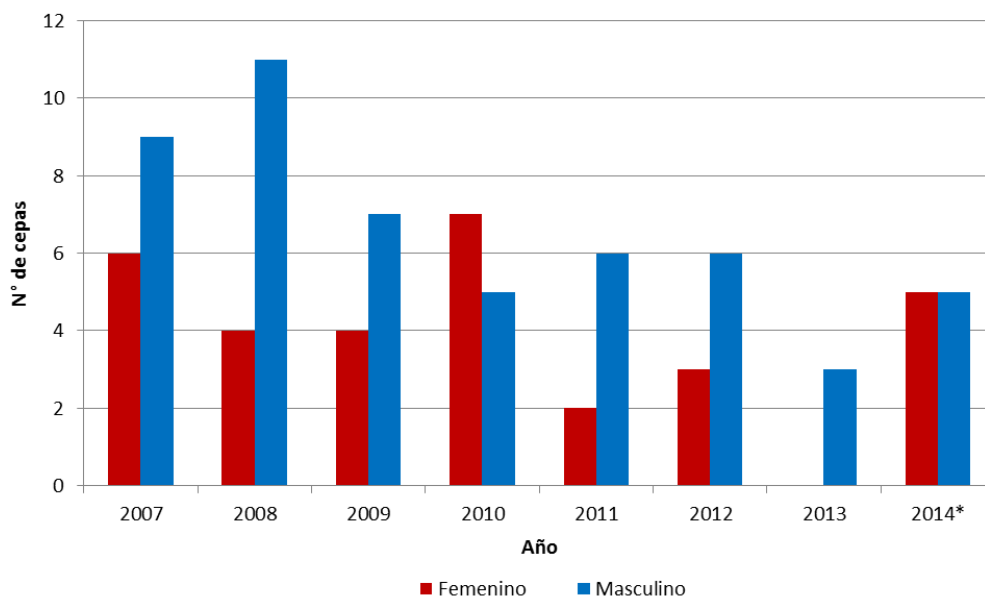
Región	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	Total
Antofagasta	1			2	1	1			5
Atacama			1						1
Coquimbo						1			1
Valparaíso	1	2					1		4
Metropolitana	11	10	9	5	2	5	1	5	48
O'Higgins		1		1				3	5
Maule	1		1			1			3
Biobío	1	1		1	3		1	2	9
Los Lagos		2		3		1			6
Los Ríos					1				1
Arica y Parinacota					1				1
Total	15	16	11	12	8	9	3	10	84

*Datos hasta Junio 2014.

Fuente: Laboratorio Meningitis Bacterianas. Instituto de Salud Pública de Chile. 2014.

La Figura 7 muestra el número de cepas confirmadas de Hib por año y sexo. El 61,9% (52/84) del periodo corresponde al sexo masculino.

Figura 7. Número de cepas de *Haemophilus influenzae* tipo b aislado de enfermedad invasora según grupo etario y año. Chile 2007 - 2014*.



*Datos hasta Junio 2014.

Fuente: Laboratorio Meningitis Bacterianas. Instituto de Salud Pública de Chile. 2014.

En el periodo enero 2009 a junio 2014, se analizó la susceptibilidad de todas las cepas confirmadas de *H. influenzae* tipo b (Hib) a distintos antimicrobianos.

La Tabla 4 presenta el número de cepas analizadas por año y el porcentaje de cepas sensibles, intermedias y resistentes, para cada uno de los antimicrobianos.

La presencia de cepas resistentes a ampicilina varió entre 2/10 en el 2014 y 4/11 en el año 2009, y para cloranfenicol varió entre 0/8 en el 2011 y 2014 y 3/9 y 1/3 para los años 2012 y 2013.

El 100% de las cepas de Hib fueron sensibles a ceftriaxona/cefotaxima, meropenem, ciprofloxacino y rifampicina.

Tabla 4. Susceptibilidad a antimicrobianos en cepas de *Haemophilus influenzae* tipo b aislado de enfermedad invasora. Chile 2009 -2014*.

Año	n	Ampicilina			Cloranfenicol		Ceftriaxona/ Cefotaxima		Meropenem		Ciprofloxacino		Rifampicina	
		S	I	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R
2009	11	5/11	2/11	4/11	10/11	1/11	11/11	0	11/11	0	11/11	0	11/11	0
2010	12	9/12	0	3/12	11/12	1/12	12/12	0	12/12	0	12/12	0	12/12	0
2011	8	6/8	0	2/8	8/8	0	8/8	0	8/8	0	8/8	0	8/8	0
2012	9	4/9	2/9	3/9	6/9	3/9	9/9	0	9/9	0	9/9	0	9/9	0
2013	3	2/3	0	1/3	2/3	1/3	3/3	0	3/3	0	3/3	0	3/3	0
2014*	10	8/10	0	2/10	10/10	0	10/10	0	10/10	0	10/10	0	10/10	0

*Datos hasta Junio 2014.

S: Sensible, R: Resistente, I: Intermedio

Fuente: Laboratorio Meningitis Bacterianas. Instituto de Salud Pública de Chile. 2014.

4. Conclusiones

Durante el periodo enero de 2007 y junio de 2014, en el Instituto de Salud Pública, se confirmaron un total de 505 cepas de Hi aisladas de enfermedad invasora. De este total, el 67% corresponden a *H. influenzae* no tipificables (NTHi), el 17% al serotipo b, 9% al serotipo a, 5% al serotipo f, y 1% a los serotipos c, d y e.

Del total de cepas confirmadas en el periodo de estudio, el 66,3% procedían de la Región Metropolitana, el 5,1% de la región del Biobío y 5,1% de Los Lagos. Respecto a las cepas de Hib el 57% de las cepas confirmadas en el periodo, procedían de la Región Metropolitana seguidas por el 10,7% procedentes de la Región del Biobío.

La distribución etaria de Hi durante el periodo estudiado mostró el predominio del grupo de 1 a 5 años, excepto en el año 2010 en que este grupo y el de 15 a 54 años tuvieron el mismo número de cepas confirmadas. El grupo etario con mayor frecuencia de Hib fue el menor a 5 años.

El 100% de las cepas de Hi fueron sensibles a ceftriaxona/cefotaxima, meropenem y ciprofloxacino.

El porcentaje global de resistencia a ampicilina varió entre el 13% y el 27% y la presencia de cepas Hib resistentes entre 2/10 y 4/11.

El porcentaje de resistencia global a cloranfenicol varió entre 0% y 6% y para Hib las cepas resistentes oscilaron entre 0/8 y 3/9, no encontrándose Hib resistentes a este antimicrobiano en los años 2011 y 2014.

5. Referencias

1. Oliver J. *Hemophilus influenzae* [Internet]. Sharing In Health; 2011 [consulta 5 de agosto de 2014]. Disponible en: http://www.sharinginhealth.ca/pathogens/bacteria/hemophilus_influenzae.html
2. Devarajan,V. R. *Haemophilus Influenzae* Infections [Internet]. Emedicine-Medscape; 2014 [consulta 4 de agosto de 2014]. Disponible en: <http://emedicine.medscape.com/article/218271-overview#showall>
3. Public Health Agency of Canada. *Hemophilus influenzae* [Internet]. 2011 [Consulta 6 de agosto de 2014]. Disponible en: <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/haemophilus-influenzae-eng.php>
4. Ulanova M. Review Article Global Epidemiology of Invasive *Haemophilus influenzae* Type a Disease: Do We Need a New Vaccine? [Internet]. Northern Ontario School of Medicine, Lakehead University; 2013 [Consulta 4 de agosto de 2014]. Disponible en: <http://www.hindawi.com/journals/jv/2013/941461/>
5. Centers for Disease Control and Prevention /The Pink Book. Vaccines and Immunizations *Haemophilus influenzae* type b. Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases [Internet]. 2014 [Consulta 6 de julio de 2014]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/hib.html>
6. Ohio Department of Health State The Infectious Disease Control Manual. *Haemophilus Influenzae*, Invasive disease [Internet]. ODH-IDCM; 2014 [Consulta: 4 de agosto de 2014]. Disponible en: <http://www.odh.ohio.gov/pdf/idcm/Hflu.PDF>

7. Washington State Department of Health. *Haemophilus influenzae* invasive Disease (under age 5 years) [Internet]. 2011 [Consulta 13 de agosto de 2014]. Disponible en: <http://www.doh.wa.gov/Portals/1/Documents/5100/420-055-Guideline-Hflu.pdf>
8. Centers for Disease Control and Prevention. *Haemophilus influenzae* (including Hib) [Internet]. 2014 [Consulta 2014 Jul 30]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/hi-disease/>
9. Laupland K, Schönheyder H, Østergaard C, Dahl Knudsen J, Valiquette L, Galbraith J, Kennedy K y Gradel K. Epidemiology of *Haemophilus influenzae* bacteremia: A multi-national population-based assessment. *Journal of Infection*. 2011 Feb;62(2):142–8.
10. CDC/WHO. Laboratory Methods for the Diagnosis of Meningitis caused by *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* [Internet]. 2nd edition. 2011. [Consulta 2014 Jul 30]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/meningitis/lab-manual/full-manual.pdf>
11. C. Briere E., Mayer L., Messonnier N. Manual for the Surveillance of Vaccine-Preventable Diseases Chapter 2: *Haemophilus influenzae* type b (Hib) [Internet]. 2014 [Consulta 14 de agosto de 2014]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/vaccines/pubs/surv-manual/chpt02-hib.html>
12. WHO-Unicef. Global Immunization Data [Internet]. 2014 [Consulta 6 de agosto de 2014]. Disponible en: http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/Global_Immunization_Data.pdf
13. Subsecretaría de Salud Pública, División de Planificación Sanitaria, Depto. Epidemiología. Circular de Vigilancia Epidemiológica de Enfermedades Invasivas por *Haemophilus influenzae* tipo B (Hib) [Internet]. Minsal Chile; 2008 [Consulta 30 de julio de 2014]. Disponible en: <http://epi.minsal.cl/epi/html/normas/circul/CircularHib08.pdf>
14. Cruces P, Donoso A, Camacho J. y Llorente M. Infecciones invasoras por *Haemophilus influenzae* tipo b después de la incorporación de la vacuna conjugada al Programa Ampliado de Inmunizaciones en Chile. *Rev Chil Infect*. 2006;23(1):50–4.