



TRABAJO DE FIN DE GRADO

ESTUDIO DESCRIPTIVO DE *HAFNIA ALVEI*
AISLADAS EN COPROCULTIVOS:
aproximación a su valoración en clínica

Facultad de CC de la Salud. Grado en Medicina

Alumno

Alberto Pérez Domínguez

Tutores

Dr. José María Eiros Bouza

Dra. Mónica de Frutos Serna

VALLADOLID 2018

ÍNDICE

RESUMEN	3
INTRODUCCIÓN	4
MATERIAL Y METODOS	5
RESULTADOS	6
DISCUSIÓN	9
CONCLUSIONES	11
BIBLIOGRAFÍA	13

RESUMEN

El papel de *Hafnia alvei* en la etiología de diarrea en humanos es todavía muy controvertido. El objetivo del estudio fue describir la población en cuyos coprocultivos se aisló *H alvei* y el manejo terapéutico de estos casos en nuestro Área de Salud. Para ello se realizó un estudio descriptivo retrospectivo de 2014 y 2015. Se recogieron en la historia clínica informatizada, variables epidemiológicas, clínicas, tratamiento y evolución.

Se procesaron 7.290 coprocultivos, 3.321 en 2014, de los cuales en 58(1,7%) se aisló *Hafnia alvei* y, 3.969 en 2015, de los cuales 53 (1,3%) fueron positivos. El 60,4% fueron mujeres. La edad media fue de 38,68 años. El 68,5% provenían de Atención Primaria. En el 71,2% se recogió clínica asociada, siendo el síntoma más frecuente la diarrea, en el 57,7%. En el 75,7% de los casos no existía patología de base asociada.

El 43,2% de los casos recibió tratamiento. El 66,7% de los pacientes tratados procedían de Atención Primaria. La duración media del tratamiento fue de 8 días. En el 85,4% de los casos tratados, la evolución fue favorable. Todas las cepas fueron sensibles a ciprofloxacino y trimetoprim-sulfametoxazol.

Son necesarios más estudios que establezcan de forma concluyente la enteropatogenicidad o no de *Hafnia alvei*.

PALABRAS CLAVE: *Hafnia alvei*, enteropatogenicidad

INTRODUCCIÓN

Hafnia era uno de los más de 40 géneros que integraban la familia *Enterobacteriaceae*, descrito hace poco más de 60 años por Moller. En la actualidad gracias a los avances genéticos la taxonomía de la familia *Enterobacteriaceae* ha cambiado, y *Hafnia alvei* se ha situado en la familia *Hafniaceae*, dentro del orden *Enterobacterales* (enterobacterias)^{1,2}.

Su reservorio natural parece ser el tracto gastrointestinal de algunos animales, sobre todo mamíferos, llegando a causar enfermedad en varias especies, siendo en gallinas y pollos donde se han descrito brotes con elevada mortalidad tratándose de cuadros septicémicos que debutan con diarrea^{3,4}.

Existen pocos trabajos que relacionen *Hafnia alvei* con patología humana. Según la revisión de Janda y cols, este microorganismo se aísla sobre todo en infecciones de piel y partes blandas así como bacteriemias secundarias a estos procesos y también en otros, sobre todo de localización abdominal, la mayoría polimicrobianos y nosocomiales; algunas de estas bacteriemias cursan o están precedidas de diarrea, pero no es un síntoma constante ni tiene, cuando se presenta, las mismas características¹.

Su papel como causa de gastroenteritis está aún poco documentado y no exento de controversia; los primeros trabajos publicados datan de 1979 y describen dos brotes nosocomiales sin relación epidemiológica ocasionados por el todavía llamado "*Enterobacter hafniae*"⁵. Posteriormente, ya en 1991, se relaciona *Hafnia alvei* con un caso de diarrea en una niña⁶ y poco después se publica un brote de casos de diarrea del viajero⁷. Sin embargo estudios moleculares posteriores concluyen que estos hallazgos corresponden a una nueva especie de *Escherichia* (*E albertii*) y no a *Hafnia alvei*^{8,9}.

Más recientemente, en 2005, se publicó el aislamiento de *Hafnia alvei* en las heces de una niña que tras una diarrea sufre un probable caso de síndrome hemolítico urémico, además esta publicación refiere el hallazgo de la producción, por parte de la enterobacteria aislada de una toxina verotoxigénica¹⁰. La presencia de esta verotoxina se confirma en un elevado porcentaje de cepas de *Hafnia alvei* estudiadas en otro trabajo de 2011, aisladas en distintas muestras clínicas¹¹.

El objetivo de este estudio es describir la muestra poblacional en la que se aisló *Hafnia alvei* en los coprocultivos de los años 2014 y 2015, el contexto clínico en el que se solicita la prueba, así como recoger y evaluar el manejo terapéutico que se hace de estos casos en el área de Salud Oeste de Valladolid.

MATERIAL Y METODOS

Estudio descriptivo retrospectivo de las historias clínicas de los pacientes con coprocultivos en los que se valoró el aislamiento de *Hafnia alvei* en el Área de Salud de Valladolid Oeste, durante los años 2014 y 2015.

El Área de Salud de Valladolid Oeste atiende a una población de 257.518 habitantes, 48,8% hombres y 51,2% mujeres. La edad media de nuestra población es de 42,79 años. En el estudio, se recogieron a partir de la historia clínica informatizada, variables epidemiológicas de los pacientes así como variables clínicas, tratamiento y evolución del cuadro de diarrea.

Se realizó un análisis descriptivo, en el que se utilizaron medidas de tendencia central y de dispersión para las variables cuantitativas y frecuencias absolutas y relativas para las variables cualitativas. Para todo ello se empleó el paquete estadístico SPSS versión 14.0.

Desde el Servicio de Microbiología se informa la presencia de *Hafnia alvei* en los coprocultivos en los casos en los que su crecimiento es predominante y se ha descartado la presencia de otros enteropatógenos productores de diarrea, bacterianos (*Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Yersinia* spp, *Aeromonas* spp y *Campylobacter* spp), víricos (Rotavirus, Adenovirus, Astrovirus y Norovirus) y parásitos (en nuestro medio *Giardia intestinalis* y *Cryptosporidium* spp). El procesamiento de las muestras en el laboratorio se realizó según protocolos habituales. La identificación y sensibilidad se realizó con Vitek 2 (Biomérieux^R) y la interpretación con criterios CLSI 2016.

En el resultado del estudio microbiológico, cuando se informa de la presencia en las heces de este microorganismo, se añade de forma sistemática el comentario “Puede causar enteritis, valorar en el contexto clínico”.

RESULTADOS

En el periodo de estudio se procesaron 7.290 coprocultivos, con un total de 111 cultivos positivos para *Hafnia alvei*, que se distribuyeron de forma similar en los dos años, el 52,3% (58) fueron positivos en el año 2014 y el 47,7% (53) en 2015.

La distribución por meses de los coprocultivos positivos para *Hafnia alvei* se observa en la **Figura 1**.

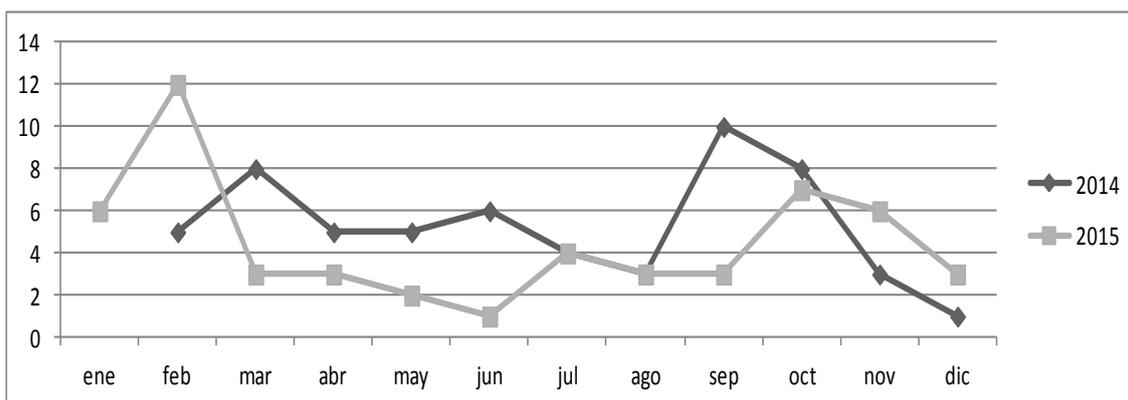


Figura 1: Distribución por meses de coprocultivos con aislamiento valorable de *Hafnia alvei* en 2014 y 2015

Del conjunto de aislamientos, el 60,4% (67) correspondieron a mujeres y el 39,6% (44) a hombres. La edad media de los pacientes durante el periodo de estudio ha sido de 38,68 años (DE: 24,48 años) y la mediana 36 años, con un rango de 1 a 98 años.

Del total de casos, el 68,5% (76) de las peticiones se realizaron desde Atención Primaria, de las cuales el 60,5% (46) se solicitaron desde un Centro de Salud Urbano y el 39,5% (30) desde un Centro de Salud Rural.

Desde Atención Hospitalaria se solicitaron el 31,5% (35), de las cuales el 40% (14) se solicitaron desde el Servicio de Urgencias Hospitalarias, el 31,4% (11) desde Consultas Externas Hospitalarias y el 28,6% (10) desde Unidades de Hospitalización.

Según lo recogido en la historia clínica de estos pacientes, el 61,3% (68) presentaban sintomatología digestiva baja (diarrea, abdominalgia, meteorismo, rectorragia, etc.), el 10,8% (12) clínica digestiva alta (náuseas, vómitos, aerofagia,..), un 6,3% (7) manifestaciones no digestivas (fiebre, sepsis, etc.) y

en un 21,6% (24) de los pacientes no se encontraron datos clínicos registrados.

El motivo de consulta (síntoma guía) encontrado en la serie de casos estudiada fue de diarrea en el 57,7% (64), abdominalgia en el 8,1% (9), vómitos en el 4,5% (5) y el 0,9% (1) fiebre y nauseas . En el 27,9% (31) de los casos no se encontró registro del síntoma guía.

No presentaban patología de base asociada el 75,7 (84) de los pacientes, del resto, el 9% (10) presentaba hipertensión arterial en tratamiento, el 5,4% (6) tenían cáncer, el 3,6% (4) padecía una enfermedad autoinmune, el 2,7% (3) diabetes mellitus, el 1,8% (2) estaba en tratamiento con corticoides, un 0,9% (1) presentaba obesidad y un 0,9% (1) enfermedad cerebro vascular.

Se cruzaron los datos de filiación de los pacientes con las fechas del diagnóstico para poder identificar la existencia de brotes, y no encontramos correspondencias que pudieran llevar a sospechar que aconteciesen.

Respecto al tratamiento, el 43,2% de los pacientes con aislamiento de *Hafnia alvei* (48) recibió tratamiento antibiótico, frente al 36,9% (41) que no lo recibió; en el 19,8% restante (22) de los casos positivos, no se registró en la historia clínica dicho campo.

La media de edad de los pacientes tratados fue de 43,7 años (DE: 24,1). De estos casos tratados, el 10,4% (5) eran niños ≤ 14 años. En el 2014 se trataron 20 pacientes, de los cuales el 15% (3) eran niños y en el 2015, se trataron 28 pacientes y el 7,1% (2) eran ≤ 14 años.

El 66,7% de los pacientes (32) que recibieron tratamiento procedían de Atención Primaria y el 33,3% (16) de Atención Hospitalaria, de los cuales el 31,3% (5) de consultas externas hospitalarias, 37,5% (6) de pacientes ingresados y 31,3% (5) desde el servicio de urgencias. El 97,9% (47) de los pacientes tratados presentaban una clínica digestiva baja (diarrea aguda, diarrea crónica, abdominalgia).

La duración de la clínica de los pacientes tratados hasta el diagnóstico microbiológico fue muy variable; solo el 12,5% (6) de los casos presentaba una clínica aguda (≤ 7 días). El 33,3% (16) llevaba con clínica entre 8 y 30 días, el 25% (12) presentaba clínica de meses de evolución (de 60 a 90 días) y el 6,25% (3) presentaba una sintomatología crónica de más de un año de evolución (≥ 365 días). En el 23% de los casos no se registró este dato en la historia clínica.

Cabe destacar que de estos pacientes tratados, 5 presentaban como patología de base un cáncer, dos de ellos mieloma múltiple, otro con una leucemia linfocítica aguda y los otros dos una neoplasia sin determinar.

Los antibióticos pautados fueron en el 60,4% (29 pacientes) quinolonas (ciprofloxacino y levofloxacino), el 18,8% (9) de los casos fueron tratados con una cefalosporina de 3ª generación, un 16,7% (8) con trimetoprim-sulfametoxazol, un 2,1% (1) con una cefalosporina de 2ª generación, y un paciente (2,1%), fue tratado con meropenem. Este paciente tratado con meropenem tenía 31 años, estaba ingresado, presentó diarrea y como patología de base tenía una leucemia linfocítica. La duración del tratamiento fue de 5 días con evolución favorable.

La duración media del tratamiento fue de 8 días, con un mínimo de 5 y un máximo de 10 días. Cabe destacar que el 4,2% (2) recibió tratamiento antibiótico 5 días, el 45,8% (22) recibió tratamiento durante 7 días y el 27,1% (13) recibió antibiótico 10 días. En el 23% de los casos no se registró la duración del tratamiento en la historia.

En los pacientes que fueron tratados durante 10 días, el antibiótico utilizado fue una cefalosporina de 3ª generación (5 casos), trimetoprim-sulfametoxazol (4 casos), ciprofloxacino (3 casos) y una cefalosporina de 2ª generación en un caso.

Con el objeto de documentar los casos de pacientes tratados con antibióticos que esta entidad se consideran de segunda línea recogimos los datos mostrados en la **Tabla 1.**

	Nº de tratados (n)	Edad Media (años)	Duración media tto (días)	Evolución favorable
Meropem	1	31	5	100%
Levofloxacino	2	53,5	*	50%
Cefalosporina 2^a	1	56	10	*
Cefalosporina 3^a	9	42,9	8	44,4%

* No registrado

Tabla 1: Descriptivo de los pacientes tratados con antibióticos de segunda línea

El antibiograma de las cepas aisladas en el laboratorio fue muy estable. De las 111, todas fueron resistentes a Ampicilina y Amoxicilina/clavulánico, respecto a Cefuroxima el 84% sensibles, el 99% sensibles a Cefoxitina, y todas sensibles a Cefotaxima e Imipenem. El 98% de las cepas fue sensible al Acido Nalidíxico y el 100% a Ciprofloxacino. Además el 100% de los aislamientos fueron sensibles a Gentamicina y a Trimetoprim/sulfametoxazol.

En el 85,4% de los casos tratados, la evolución fue favorable.

DISCUSIÓN

El papel de *Hafnia alvei* en la etiología de la gastroenteritis está aún poco documentado y no exento de controversia. Por primera vez en 1979, Ratman y cols⁵ describen dos brotes de gastroenteritis nosocomial separados por un mes, causados por el entonces "*Enterobacter hafniae*"; fueron dos biotipos y serotipos distintos y no encontraron el origen de los mismos. Más tarde en 1991 se publica un caso de diarrea en una niña de nueve meses en la que solo se aísla en los dos cultivos de heces que se realizan *Hafnia alvei*, cepa que se inocula en conejos produciendo en algunos de ellos lesiones intestinales del tipo "attachment-effacement"(A/E) típicas de *E coli* enteropatógeno⁶; poco después estos autores publican la asociación epidemiológica de *Hafnia alvei* con diarrea en dos estudios de casos y controles descritos en sujetos finlandeses de viaje por Marruecos⁷, pero en

este caso no encuentran las mismas lesiones A/E, ni el gen que las codifica (eaeA). Estudios posteriores realizados por estos mismos autores sobre estos aislados⁸ concluyen que se trata de una nueva especie de *Escherichia* (*E albertii*) y no *Hafnia alvei*, incluso análisis por secuenciación de aislados de *Hafnia alvei* procedentes de pacientes con diarrea demuestran la ausencia en esta especie de gen eae ni ningún otro factor reconocido de virulencia que pudiera causar diarrea bacteriana⁹.

Sin embargo Crandall y cols. publican en 2005 el aislamiento de *Hafnia alvei* en las heces de una niña de 11 años que tras una diarrea sanguinolenta desarrolla un cuadro probable de síndrome hemolítico urémico. Este aislamiento producía una toxina citolítica sobre cultivos monocapa de células Vero, toxina menos potente y antigénicamente distinta de la Stx producida por *E coli* enterohemorrágico¹⁰.

Estos sugerentes hallazgos se confirmaron en otro trabajo de 2011 en el que se analizan 68 aislamientos de esta bacteria, procedentes de distintas muestras clínicas en humanos, encontrando que el 70% de ellos producían esta toxina citolítica activa en células Vero, teóricamente capaz de jugar un papel en la génesis de gastroenteritis¹¹.

En nuestro laboratorio se informa la presencia de *Hafnia alvei* en los coprocultivos, cuando no se aísla otro enteropatógeno apoyándonos en esta bibliografía referida, pero siempre advirtiendo al médico solicitante de la posibilidad de que pudiera tratarse de un hallazgo sin relación con el proceso clínico del paciente.

Ante la falta de suficiente evidencia en la literatura y el desconocimiento del manejo que se hacía de estos aislamientos en nuestro Área de salud, nos planteamos revisar si se estaban valorando, si se pautaba a los pacientes tratamiento antibiótico y con qué, así como la evolución clínica de los pacientes.

CONCLUSIONES

El estudio presenta la limitación de que los datos clínicos recogidos son los registrados en las historias clínicas informatizadas, siendo posible que haya datos de interés en la entrevista clínica que luego no se recojan. Esto explicaría la existencia cerca de un 22% de los casos en los que no encontramos recogida en la historia clínica el motivo de la petición del coprocultivo, ni en un porcentaje mayor, casi 28%, el motivo de consulta.

Nuestra aportación muestra un escenario en el que las *Hafnia alvei* informadas se asocian con sintomatología digestiva baja, de larga evolución, sobre todo diarrea, en pacientes comunitarios, en la edad media de la vida, con predilección por las mujeres y en general sin patología de base, que se presenta fundamentalmente en meses fríos del año, sobre todo en otoño. En relación a los pacientes que recibieron tratamiento antibiótico no encontramos características diferentes a los no tratados, ya que la mayoría eran también mujeres adultas con clínica digestiva de larga evolución (más de 8 días) sin patología de base, si bien los cinco pacientes con diagnóstico de cáncer fueron tratados.

La resolución del cuadro clínico en más del 85% de los pacientes tratados apoya su papel etiológico aún cuando no se puede obviar el hecho de que los mismos antibióticos que eliminan *Hafnia alvei* del tubo digestivo pueden erradicar otros microorganismos que pudieran ser las verdaderas causas del cuadro.

El antibiograma de las cepas aisladas coincide con el referido en los pocos trabajos publicados en este sentido^{11, 13, 14}. Todos los aislados fueron sensibles a ciprofloxacino y trimetoprim-sulfametoxazol, antibióticos ambos que podrían considerarse de elección cuando estuviese indicado tratar estos casos. Encontramos todas las cepas resistentes a ampicilina y amoxicilina con ácido clavulánico, todas sensibles a carbapenemas y cefalosporinas de tercera generación y con porcentajes más bajos de sensibilidad respecto a cefalosporinas de primera y segunda generación.

No hemos encontrado datos acerca de si en algunos pacientes intercurriesen otros procesos infecciosos o alergias que justificaran algunos tratamientos, pero salvo que existieran estos casos, encontramos en esta serie tratamientos largos y con antibióticos de amplio espectro; en este sentido es posible que falte formación o información que racionalice el uso de los antibióticos en este contexto.

Este estudio revela que *Hafnia alvei* puede tener un papel en la etiología de las gastroenteritis puesto que en la mayoría de los estudios microbiológicos de heces en los que se la aísla, habiendo descartado “enteropatógenos clásicos” corresponden a pacientes con clínica digestiva baja de larga evolución. El hecho constatado de que cerca de la mitad de las informadas se traten con antibióticos nos obliga a mantener el rigor a la hora de informarla (solo cuando se excluyen otras causas y en cultivos puros o predominantes).

Se impone además la necesidad de seguir investigando sobre la enteropatogenicidad de este microorganismo y si puede ser la presencia de una verotoxina encontrada por algunos autores¹¹ lo que haga que las cepas portadoras del gen que la codifique puedan causar daño a nivel digestivo, y sean solo éstas las que se deban informar desde el laboratorio de Microbiología.

Por último, también en este contexto clínico, recordar el enorme valor que tiene para la utilidad y eficiencia de los estudios microbiológicos, disponer de información clínica por parte del médico peticionario..

BIBLIOGRAFÍA

1. Janda JM, Abbott SL. The genus *Hafnia*: from soup to nuts. Clin Microbiol Rev 2006; 19: 12-8.
2. Adeolu M, Alnajar S, Naushad S, S Gupta R. Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacteriales': proposal for *Enterobacterales* ord. nov. divided into the families *Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae* fam. nov., *Pectobacteriaceae* fam. nov., *Yersiniaceae* fam. nov., *Hafniaceae* fam. nov., *Morganellaceae* fam. nov., and *Budviciaceae* fam. nov. Int J Syst Evol Microbiol 2016; 66: 5575- 99.
3. Real F, Fernández A, Acosta F, Acosta B, Castro P, Déniz S, et al. Septicemia associated with *Hafnia alvei* in laying hens. Avian Dis 1997; 41:741–7.
4. Casagrande Proietti P, Passamonti F, Pia Franciosini M, Asdrubali G. *Hafnia alvei* infection in pullets in Italy. Avian Pathol 2004; 33:200–4.
5. Ratman S, Butler RW, March S, Parsons S, Clarke P, Bell A, et al. *Enterobacter hafniae*- associated gastroenteritis. Newfoundland. Can Dis Weekly Rep 1979; 5: 231-2.
6. Albert MJ, Alam K, Islam M, Montanaro J, Rahman ASMH, Haider K, et al. *Hafnia alvei*, a Probable Cause of Diarrhea in Humans. Infect Immun 1991; 59(4): 1507-13.
7. Ridell J, Siitonen A, Paulin L, Mattila L, Korkeala H, Albert MJ. *Hafnia alvei* in Stool Specimens from Patients with Diarrhea and Healthy Controls. J Clin Microbiol 1994; 32(9): 2335-7.
8. Janda JM, Abbott SL, Albert MJ. Prototypal Diarrheagenic Strains of *Hafnia alvei* Are Actually Members of the Genus *Escherichia*. J Clin Microbiol 1999; 37(8): 2399-401.
9. Janda JM, Abbott SL, Khashe S, Probert W. Phenotypic and genotypic properties of the genus *Hafnia*. J Med Microbiol 2002; 51: 575-80.

10. Crandall C, Abbott SL, Zao YQ, Probert W, Janda JM. Isolation of toxigenic *Hafnia alvei* from a probable case of hemolytic uremic syndrome. *Infection* 2006; 34: 227-9.
11. Abbott SL, Moler S, Green N, Tran RK, Wainwright K, Janda JM. Clinical and laboratory diagnostic characteristics and cytotoxic potential of *Hafnia alvei* and *Hafnia paralvei* strains. *J Clin Microbiol* 2011; 49(9): 3122-6.
12. Hernández Milán B, Menéndez-Rivas Villamil M. *Hafnia alvei* en gastroenteritis aguda infantil. *An Esp Pediatr* 1998; 48:331
13. Fernández-Roblas R, Cabria F, Esteban J, López JC, Gadea I, Soriano F. In vitro activity of gemifloxacin (SB-265805) compared with 14 other antimicrobials against intestinal pathogens. *J Antimicrob Chemother* 2000; 46: 1023-7.
14. Stock I, Rahman M, Sherwood KJ, Wiedemann B. Natural antibiotic susceptibility patterns and biochemical identification of *Escherichia albertii* and *Hafnia alvei* strains. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 51: 151–63