

# Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

[www.elsevier.es/eimc](http://www.elsevier.es/eimc)



## Microbiología de *Hafnia alvei*

José Ramos-Vivas

*Instituto de Investigación Sanitaria Valdecilla (IDIVAL), Santander, España*



### RESUMEN

**Palabras clave:**

*Hafnia alvei*

*Hafnia paralvei*

Taxonomía

Factores de virulencia

Resistencia antimicrobiana

*Hafnia alvei* es un bacilo gramnegativo facultativamente anaeróbico que constituye parte de la flora intestinal humana. Hasta hace poco, las cepas de *H. alvei*, que se identificaban por métodos convencionales, por miniaturización o por sistemas automáticos, podían confundirse fácilmente con miembros de los géneros *Serratia*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Yokenella*, *Obesumbacterium* o *Salmonella*, por lo que era necesario realizar técnicas moleculares para su identificación definitiva en la práctica clínica. Además, recientemente se ha introducido una nueva especie de *Hafnia*, *H. paralvei*, que sin duda incluye a muchas de las cepas previamente identificadas en la literatura como *H. alvei*. Aunque el aislamiento de *H. alvei* de muestras clínicas humanas sigue siendo poco frecuente, han aumentado los artículos científicos que evidencian un aumento de la resistencia a los antibióticos en esta especie y es probable que este organismo gane cada vez más importancia en el futuro. Además, aunque *H. alvei* comparte algunos mecanismos de virulencia con otros enteropatógenos gramnegativos, se sabe poco sobre los factores que contribuyen a su patogénesis en humanos. El presente artículo revisa los métodos de identificación actuales, la resistencia a los antimicrobianos y los factores de virulencia de esta bacteria.

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

## Microbiology of *Hafnia alvei*

### ABSTRACT

**Keywords:**

*Hafnia alvei*

*Hafnia paralvei*

Taxonomy

Virulence factors

Antimicrobial resistance

*Hafnia alvei* is a Gram-negative facultatively anaerobic bacillus that constitutes part of the human gut flora. Until recently, *H. alvei* strains could be mistakenly identified by conventional methods, miniaturisation or automatic systems as members of the *Serratia*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Yokenella*, *Obesumbacterium* or *Salmonella* genera. Consequently, molecular techniques were required for their definitive identification in the clinical laboratory. In addition, a new *Hafnia* species, *H. paralvei*, has recently appeared, which undoubtedly includes many of the strains reported in the literature as *H. alvei*. Although *H. alvei* isolation from human clinical specimens remains uncommon, the development of drug resistance due to this species is emerging and it is likely that this organism will gain increasing importance in the future. Moreover, although *H. alvei* shares some virulence mechanisms with other Gram-negative enteropathogens, little is known about the factors that contribute to its pathogenesis in humans. The present article reviews the current identification methods, antimicrobial resistance and virulence factors of this bacterium.

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

\*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [jvivas@idival.org](mailto:jvivas@idival.org)

## Introducción

*Hafnia alvei* es una bacteria bacilar Gram negativa anaeróbica facultativa. Este microorganismo se distribuye ampliamente en la naturaleza, y pertenece a la microbiota comensal intestinal de muchos animales, en algunos de ellos se considera como patógeno oportunista; especialmente en aves de corral y en peces, en los que se han descrito brotes que han afectado a un gran número de individuos<sup>1,2</sup>. *H. alvei* tiene también cierto interés para la industria alimentaria, donde se la asocia con el deterioro de algunos productos alimentarios, y frecuentemente se aísla de productos lácteos y carnes envasadas al vacío<sup>3,4</sup>. En el hombre, esta bacteria es un habitante normal del tracto intestinal, aunque algunos investigadores también la consideran un comensal del tracto respiratorio.

## Patología en humanos

En humanos, esta especie se ha asociado con un amplio abanico de infecciones que incluyen bacteremia<sup>5-8</sup>, septicemia<sup>9</sup>, neumonía<sup>10,11</sup>, endoftalmitis<sup>12</sup>, infecciones de articulaciones y heridas<sup>13</sup>, infecciones respiratorias<sup>14,15</sup>, síndrome urémico hemolítico<sup>16</sup> y meningitis<sup>17</sup>. En patologías extraintestinales, como peritonitis o abscesos, también se ha reconocido a *H. alvei* como agente causal<sup>18-20</sup>. Su relación con casos de trastornos gastrointestinales ha recibido creciente atención desde hace varias décadas<sup>21</sup>, aunque la literatura revela que esta bacteria se ha asociado con casos de diarrea y gastroenteritis desde 1957<sup>22-25</sup>. Por desgracia, la taxonomía de este género —y en general la mayoría de técnicas bacteriológicas y métodos de identificación— no estaba muy definida en aquella época, y los primeros artículos científicos sobre la relación entre *Hafnia* y enfermedades intestinales prácticamente no se han citado por investigaciones más recientes. La polémica respecto a si se puede considerar causante o no de patologías intestinales graves, como diarrea aguda, comenzó realmente a principios de la década de 1990, con los trabajos realizados por investigadores del International Center for Diarrheal Disease Research in Bangladesh y los Centers for Disease Control and Prevention (CDC) estadounidenses. En estos trabajos se aisló primariamente una cepa identificada como *H. alvei* en un niño de 9 meses que padecía una diarrea acuosa<sup>26</sup>. Esta cepa en cuestión y otras aisladas en la misma zona, no producían toxinas típicas implicadas en trastornos gastrointestinales, pero sí inducían diarrea en modelos animales de infección (conejo). Además, tras observar el ileón y el colon de los conejos infectados, se detectó, por microscopía electrónica, un tipo de lesiones parecidas a las que realizan algunas cepas de *Escherichia coli* enteropatogénicas, que suelen ser agentes causales de diarrea en humanos. A este trabajo siguieron otros *in vitro* e *in vivo* de estos mismos investigadores, con distintos colaboradores internacionales, que intentaron clarificar el posible papel de *H. alvei* como causante de diarrea en humanos<sup>27,28</sup>. En uno de esos estudios se aislaron nuevas cepas de esta bacteria de una docena de turistas finlandeses que habían experimentado diarrea durante un viaje a Marruecos<sup>29</sup>. Inmediatamente, otros investigadores comenzaron a publicar trabajos en los que se relacionaba *H. alvei* con casos de trastornos gastrointestinales en humanos<sup>30-33</sup>. A finales de esa década se comprobó que la mayoría de las cepas de *H. alvei* estudiadas eran en realidad biotipos “raros” de *Escherichia* y que, aunque presentaban positividad por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para el gen *eaeA* (del inglés *attaching and effacing*) —codifica para una intimina que interacciona con los enterocitos intestinales para producir las lesiones típicas de *E. coli* enteropatogénicas—, no presentaban otras toxinas. Posteriormente, los investigadores interesados en *H. alvei* comenzaron a realizar la PCR para este gen, y mayoritariamente verificaron que cepas aisladas de pacientes con diarrea y cuya identificación se acreditaba como *H. alvei*, no lo presentaban<sup>34</sup>. Así que, por ejemplo, muchas de las cepas causantes de diarrea en Bangladesh pasaron a denominarse *E. albertii*.

Sin embargo, hay una mayoría de estudios que describen la presencia mayoritaria —o incluso única— de esta bacteria en heces de niños con diarrea, con edades comprendidas entre 0 y 12 años<sup>5,35,36</sup>, por lo que esta sí que podría ser el agente etiológico de algunas diarreas infantiles.

## Taxonomía e identificación

La taxonomía de *H. alvei* ha experimentado notables cambios desde que en 1954 Møller introdujera el género *Hafnia*, sobre la base de los patrones de decarboxilación de aminoácidos por especies de la familia *Enterobacteriaceae*. En años posteriores, algunos investigadores propusieron incluir a *H. alvei* dentro del género *Enterobacter*, pero mediante estudios de hibridación de ADN se comprobó que *H. alvei* no estaba tan cerca de *Enterobacter* como se pensaba<sup>37</sup>. En la década de 1990, estaba claro que las cepas que se identificaban primeramente como *H. alvei* presentaban una heterogeneidad fenotípica y genotípica evidente, por lo que se planteaba la necesidad de abordar definitivamente técnicas moleculares para dilucidar su intrincada variabilidad. Así, mediante estudios de hibridación de ADN, se comprobó que *H. alvei* contenía en realidad varias genomoespecies distintas, que unos años después se identificaron por el grupo de Janda et al<sup>38</sup>. Estos, apoyándose además en la cada vez más habitual secuenciación del gen 16S del ARN ribosómico bacteriano, consiguieron separar claramente 2 grupos distintos de cepas, a los que denominaron grupos de hibridación 1 y 2, cuyas cepas de referencia fueron la ATCC 29926 y ATCC 29927, respectivamente. Más adelante, Janda y su grupo se unieron al grupo de microbiología de la Ghent University, dirigido por G. Huys, que poseían gran experiencia en taxonomía bacteriana. Juntos consiguieron separar definitivamente los 2 grupos de bacterias del género *Hafnia*, y describieron al grupo de hibridación 2 como *H. paralvei*<sup>39</sup>. Así, *H. alvei* y *H. paralvei* son actualmente las especies de este género que se aíslan en los laboratorios de microbiología.

Sin embargo, la correcta adscripción de las cepas aisladas a cada uno de los 2 géneros era complicada, sobre todo para los laboratorios clínicos, que no podían abordar laboriosos protocolos de electroforesis de campo pulsado o hibridación ADN-ADN y solo disponían de los clásicos métodos bioquímicos o de las tiras API. Los métodos de identificación automática, como el VITEK o el MicroScan (en sus diferentes versiones), tampoco separaban estas 2 especies, por lo que en muchos casos se llegaban a confundir cepas de *H. alvei* o *H. paralvei* con especies de los géneros *Serratia*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Yokenella* y *Obesumbacterium*<sup>40,41</sup>.

Más adelante se desarrolló una serie de tests bioquímicos que parecían ayudar a la correcta identificación y clasificación de ambas especies. Para ello se emplearon los tests de la  $\beta$ -glucosidasa, de la utilización del malonato, de la fermentación de la D-arabinosa, de la fermentación de salicina y de la hidrólisis de la esculina<sup>39,42</sup>. Estos 5 tests eran en un principio asequibles a la mayoría de laboratorios, pues algunos de ellos se utilizaban clásicamente en la identificación con pruebas bioquímicas convencionales. Algunos investigadores incluso utilizaron fagos específicos de *H. alvei* para su correcta identificación<sup>43</sup>. Así, *H. alvei* sería positiva para la  $\beta$ -glucosidasa y para la utilización del malonato, negativa para la fermentación de la D-arabinosa y variable para la fermentación de la salicina y para la hidrólisis de la esculina, mientras que *H. paralvei* sería negativa para todas las pruebas, menos para la fermentación de la D-arabinosa, en el que el resultado es variable.

Teniendo en cuenta que la nueva especie *H. paralvei* se describió en 2010 y que las técnicas para la diferenciación de ambas especies se han comenzado a incorporar muy lentamente por los laboratorios, cabe la duda razonable de que muchas de las cepas aisladas con anterioridad e identificadas como *H. alvei*, en realidad sean *H. paralvei*. De hecho, algunos investigadores han publicado recientemente trabajos donde se rectifica la identificación inicial de algunas cepas que,

debido a la taxonomía de la época, se habían clasificado como *H. alvei*<sup>44</sup>. Por lo tanto, se sabe muy poco sobre la frecuencia de aislamiento de *H. paralvei*, y tampoco se sabe mucho sobre su virulencia o acerca de su resistencia antimicrobiana. Asumiendo que se han tratado siempre ambas especies como si fueran una sola, sería interesante recuperar cepas de estudios más antiguos de *H. alvei* y reidentificarlas según esas características genéticas y fenotípicas actuales.

Actualmente, *H. alvei* es una bacteria que crece perfectamente en medios bacteriológicos generales para el aislamiento de enterobacterias. En algunos casos, la bacteria supera ampliamente el número de unidades formadoras de colonias respecto a otros patógenos buscados habitualmente en estos medios, como *Enterobacter*, *Klebsiella* o *E. coli*.

Los laboratorios que se benefician de la utilización de sistemas MALDI-TOF se encontrarán con que las bases de datos no están totalmente implementadas para diferenciar entre *H. alvei* y *H. paralvei*, por lo que sería interesante optimizar dichas bases de datos. También lo sería optimizar un método de PCR para diferenciar ambas especies en la práctica clínica, y poder conocer así la frecuencia con la que aparecen tanto en coprocultivos como en infecciones intra o extraintestinales.

Por otro lado, gracias al abaratamiento de los costes de la secuenciación de genomas, ahora es más fácil clasificar correctamente ambas especies utilizando todo el contenido genómico. Actualmente, solo hay 4 genomas completos de *H. alvei* en la base de datos Gene-Bank. Estos corresponden a una cepa aislada de carne de pescado elaborada (cepa FB1) y a 3 cepas de origen humano: HUMV5920, PCM-1220 y CBA7135. Otro genoma completo procedente de una cepa de *H. alvei* (denominada bta3\_1) aislada del tubo digestivo de una abeja se ha depositado recientemente en esta base de datos<sup>45</sup>. Además, la cepa CBA7124 de *H. paralvei*, aislada de heces en un paciente que presentaba enteritis, también se ha secuenciado totalmente y se ha anotado su genoma. Estos genomas completos —y una veintena más de cada especie secuenciados parcialmente— han ofrecido una visión global de su genoma central y de sus genomas accesorios<sup>27</sup>.

Debido a la secuenciación masiva de genomas bacterianos realizada en los últimos años, las especies *H. alvei*, *H. paralvei* y la recientemente descubierta *H. psychrotolerans*, actualmente se sitúan en una familia denominada *Hafniaceae*, dentro del orden *Enterobacterales*<sup>46</sup>.

## Factores de virulencia

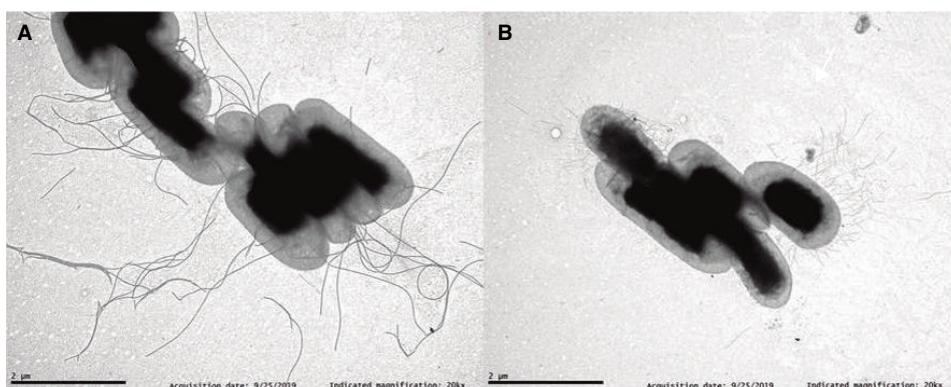
Al observar los datos recogidos de los pocos genomas completos que hay depositados en las bases de datos, se puede constatar que, al igual que otras enterobacterias, *H. alvei* presenta genes para la comunicación bacteriana (*quorum-sensing*) basados en acilhomoserina lactona y moléculas de tipo AI-2 como moléculas inductoras, y tam-

bien genes para la movilidad, quimiotaxis, formación de apéndices superficiales (fimbrias) y para formación de biocapas (biofilms). En *H. paralvei*, este sistema de comunicación con homoserina lactona y AI-2 también está presente en al menos la cepa de referencia ATCC 29927. La expresión de todos estos genotipos se ha comprobado *in vitro*. La conjunción de estos atributos (*quorum-sensing*, movilidad, fimbrias y biofilms) podría jugar un papel importante en fenómenos que relacionen la densidad de población bacteriana con los efectos patológicos o incluso con la permanencia de esta bacteria en instalaciones sanitarias<sup>47</sup>. *H. alvei* también presenta mecanismos de captación de hierro (sideróforos) que podrían participar en su patogénesis. También, aproximadamente el 50% de las cepas de *H. alvei* que se han enfrentado a suero humano son resistentes a él. Por desgracia, no se han ensayado mutantes de estos factores de virulencia en modelos *in vitro* o *in vivo*.

Como en la mayoría de enterobacterias, la expresión de algunos factores de virulencia está modulada por la temperatura. Así, *H. alvei* produce una biocapa más robusta y expresa flagelos laterales cuando se cultiva a temperatura ambiente<sup>48,49</sup>, por lo que la expresión de factores que promueven la formación de biofilm podría estar asociada con la supervivencia de esta especie en el ambiente hospitalario. Además, al contrario que con otros patógenos prioritarios, como por ejemplo *Acinetobacter*, *Klebsiella* o *Enterobacter*, tampoco se ha estudiado la resistencia de *H. alvei* a factores ambientales como desecación, falta de nutrientes, etc.

Siguiendo con el efecto de la temperatura sobre la expresión de factores de virulencia, las cepas de *H. alvei* cultivadas a 37 °C no presentan flagelos, pero una parte de la población expresa fimbrias, que podrían estar implicadas en la patogénesis, mientras que otra parte no presenta apéndices superficiales. En la figura 1 se muestra una fotografía de microscopio electrónico de barrido de la morfología de una cepa de *H. alvei* cultivada a ambas temperaturas. La aparición en un mismo cultivo de células con o sin fimbrias podría deberse a la “variación de fase”, un sistema por el que la expresión de proteínas en las bacterias se activa (fase ON) o se inactiva (fase OFF) dependiendo de factores genéticos o epigenéticos. El fenómeno de variación de fase, también puede afectar en bacterias a la expresión de genes relacionados con el lipopolisacárido (LPS), la cápsula, la morfología y opacidad de las colonias y otras proteínas o genes reguladores. Sería interesante utilizar mutantes de *H. alvei* en fimbrias o flagelos para realizar ensayos de virulencia *in vitro* o *in vivo*.

La adherencia de *H. alvei* a células eucariotas *in vitro* no es muy elevada, y solo en ensayos largos de infección (más de 2 h), algunas cepas tienen cierta capacidad de adherencia e invasión<sup>50</sup>. Además, los pocos estudios que se han realizado *in vitro* con células epiteliales humanas han utilizado un bajo número de aislados clínicos y se han realizado utilizando principalmente en células derivadas de tracto respiratorio.



**Figura 1.** Fotografía de microscopía electrónica de transmisión (TEM) de una cepa clínica de *Hafnia alvei* cultivada a 25 °C (A) y a 37 °C (B). La fotografía se ha tomado en un microscopio de transmisión JEOL (JEM-1011) a 80 kV, equipado con una cámara CCD Orius SC 1000 (GATAN), tras una tinción con ácido fosfotungstico. Magnificación original,  $\times 20.000$  aumentos.

En el año 2006 se aisló una cepa de *H. alvei* de una niña de 11 años con diarrea y síndrome hemolítico urémico<sup>16</sup>; los productos extracelulares presentes en el sobrenadante de los cultivos de esta cepa presentaron efectos citopáticos cuando se añadieron a células Vero (células epiteliales del riñón de mono verde africano, *Chlorocebus* sp.), similares a los que producen las cepas de *E. coli* O157:H7. A partir de ese momento, el mismo grupo de investigación reunió una colección de cepas de *H. alvei* y *H. paralvei* para comprobar si este fenómeno era aislado o si, por el contrario, era común en esas especies. El resultado fue que un número mayor de cepas de *H. alvei* que de *H. paralvei* producían un efecto citopático<sup>42</sup>. Estos investigadores indicaron también que el número de cepas de *H. alvei* o *H. paralvei* con capacidad citotóxica en células Vero era del 70%. Sería interesante realizar estos ensayos utilizando células de colon humanas (hay incluso varias líneas celulares establecidas disponibles) para reproducir estos ensayos, ya que las células Vero (riñón de mono) no son representativas del epitelio intestinal humano. También se debe indicar que las enterobacterias producen grandes cantidades de LPS durante su crecimiento *in vitro*, y que la sensibilidad a toxinas de las células Vero es proporcional a la concentración y tipo de LPS y al tiempo de contacto con este. Un ejemplo del efecto citotóxico de cepas de *H. alvei* sobre células Vero puede verse en la figura 2. Nosotros no hemos encontrado esta toxicidad utilizando otras líneas celulares epiteliales humanas, ni tampoco utilizando células de sistema inmunitario primarias o establecidas<sup>50</sup>; pero el efecto citopático observado en células Vero indica que en los productos extracelulares de la bacteria podría haber una toxina lítica implicada en las patologías intestinales o extra-intestinales achacadas a esta bacteria o que su LPS es especialmente tóxico en estas células.

Respecto a modelos animales de infección, hasta la fecha solo se ha utilizado el modelo *Galleria mellonella* en un ensayo con *H. alvei*<sup>51</sup>. En este trabajo se utilizó una cepa de *H. alvei* y otra de *H. paralvei*, y esta segunda presentó una dosis letal más baja ( $2,80 \times 10^5$  frente a  $9,48 \times 10^6$ ). También se han utilizado peces (trucha y dorada), ratones y cobayas para los estudios de virulencia con *Hafnia*, pero en la mayoría de ensayos publicados no se contabilizó el inóculo infectivo de forma precisa, o las dosis letales fueron muy variables entre cepas<sup>21</sup>.

### Resistencia a los antibióticos

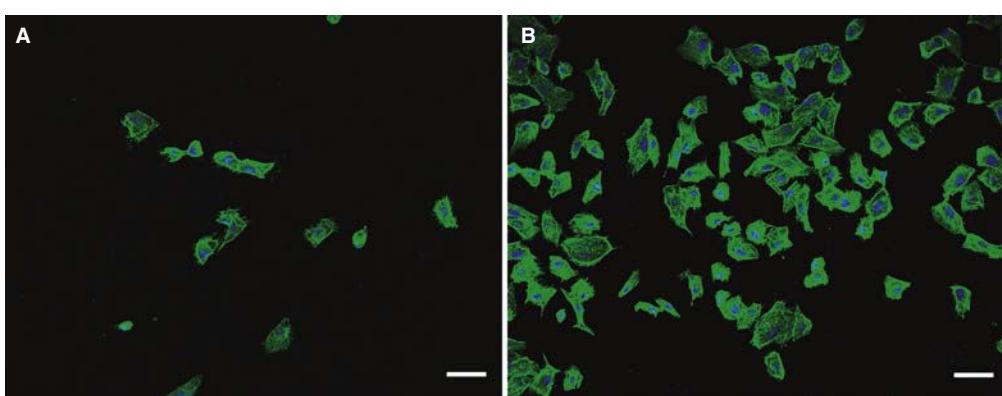
No hay muchos estudios en los que se haya analizado a la vez la sensibilidad a los antimicrobianos en un número grande de aislados clínicos. Cabe destacar el estudio de Laupland et al<sup>8</sup>, donde se analizaron cepas de *H. alvei* aisladas de 138 pacientes durante un período de 6 años, y el cultivo de orina fue la fuente principal de los aislamientos. Otros 2 estudios con gran número de cepas fueron los de Frutos et al<sup>52</sup>, con 111 aislados de coprocultivo en 2 años, Rodríguez-

Guardado et al<sup>19</sup>, con 36 cepas, Fernández-Roblas et al<sup>53</sup>, con 32 cepas, y Lancelevee et al<sup>54</sup>, con 17 cepas. En la mitad de estudios publicados en los últimos 20 años, solo se realizó el análisis de la resistencia a antimicrobianos de una sola cepa de *H. alvei*, aislada en la gran mayoría de casos en monocultivo y a la que se consideró agente etiológico de la patología estudiada en esos trabajos. En muchos de los trabajos analizados se indica que *H. alvei* es resistente a ampicilina, cefalotina, cefoxitina, cefuroxima, penicilina, piperacilina y a las combinaciones amoxicilina-clavulánico y piperazilina-tazobactam, por lo que no se recomiendan estos agentes como de primera elección. En la gran mayoría de trabajos, *H. alvei* presentó sensibilidad a amikacina, cefoxatima, cefepime, ceftazidima, ceftriaxona, ciprofloxacino, gentamicina, imipenem, meropenem, quinolonas y a la combinación trimetoprim-sulfametoxazol. En otros estudios, las cepas de *H. alvei* analizadas presentaron variabilidad respecto a su sensibilidad a tetraciclina, cotrimoxazol, cefpodoxima, gentamicina y nitrofurantoina.

Es de destacar que la gran mayoría de cepas estudiadas en infecciones causadas por *H. alvei* procedían de la comunidad, y solo en contados casos se ha podido verificar una infección nosocomial por este patógeno. La revisión de los patrones de resistencia o susceptibilidad de cepas ambientales (p. ej., en cepas aisladas de animales o alimentos) queda fuera del objetivo de esta revisión.

Hasta 2017, los trabajos en los que se había determinado la sensibilidad de *Hafnia* a colistina eran escasos<sup>18,42,44,55</sup>. En el trabajo de Günthard y Pennekamp de 2016<sup>18</sup>, 54 de las 72 cepas analizadas fueron resistentes a este antibiótico de último recurso. En 2017 se realizó un estudio con cepas aisladas de humanos y se estudió su sensibilidad a colistina mediante 3 métodos diferentes<sup>56</sup>. En conjunto, la tasa de resistencia a colistina fue del 96% (n = 25 cepas). En otro estudio se aislaron 8 cepas de *Hafnia* a partir de individuos sanos y una a partir de un paciente recibido en atención primaria, que presentaron valores de MIC para colistina de 4 (n = 5) u 8 (n = 4)<sup>57</sup>. Estos datos sobre resistencia a colistina parecen colocar a este género cerca de otros géneros de enterobacterias que son resistentes a colistina de forma natural, como *Proteus*, *Providencia*, *Morganella* y *Serratia*.

*H. alvei* posee en su cromosoma una β-lactamasa inducible (clase C de Amber) con actividad cefalosporinasa, que generalmente confiere resistencia a aminopenicilinas y cefalosporinas de primera generación, pero no a cefalosporinas de tercera y cuarta generaciones. Sin embargo, en 2010 se aisló una cepa de *Hafnia* resistente a carbapenémicos (ertapenem, meropenem e imipenem)<sup>58</sup>, lo que es de especial importancia porque los carbapenémicos son prácticamente la última línea de defensa contra infecciones causadas por enterobacterias resistentes a cefalosporinas de tercera y cuarta generaciones. Además, se ha evidenciado una relación entre varias β-lactamasas AmpC cromosómicas de *H. alvei* y de otras enterobacterias, con cefalosporina-



**Figura 2.** Efecto citopático de una cepa clínica de *Hafnia alvei* sobre células Vero. Nótese la disruptión de la monocapa de células (A) comparada con un control de células sin infectar (B). El citoesqueleto celular está teñido (verde) con faloidina Atto-488 y los núcleos celulares (azul) con DAPI. Las preparaciones se han fotografiado con un microscopio confocal Nikon A1R y un objetivo  $\times 40$  Plan-Fluor 1.3 NA. Barras de escala, 50  $\mu$ m.

sas plasmídicas presentes en especies homólogas o heterólogas, como *K. pneumoniae*, por lo que estas especies podrían ser finalmente reservorios de cefalosporinasas codificadas en plásmidos, con el consiguiente peligro de diseminación de sus genes de resistencia<sup>59,60</sup>.

## Conclusión

Esta revisión está basada en 3 aspectos de *H. alvei*, su taxonomía, su patogenicidad y su resistencia o sensibilidad a los antimicrobianos. En cuanto a la taxonomía, parece claro que algunas de las cepas que se venían identificando en los laboratorios de los hospitales como *H. alvei* eran en realidad *H. paralvei*. Todos los sistemas de identificación rápidos aún no están optimizados para separar estas 2 especies, aunque en la práctica clínica tampoco es que esto parezca muy urgente. Sería interesante separar *H. alvei* de *H. paralvei* (p. ej., con alguna prueba rápida como la PCR), para conocer un poco más sobre su virulencia y su patogenicidad. Respecto a su virulencia, aún se está lejos de comprender cómo este habitante de la microbiota normal humana puede llegar a causar patologías tan diferentes. Faltan ensayos con mutantes, buenos modelos celulares y también estandarizar algún modelo animal que pueda arrojar pistas concretas sobre su virulencia. Respecto a la resistencia a los antimicrobianos, *H. alvei* es en general un patógeno fácil de tratar con antibióticos, pero varias publicaciones nos han alertado ya sobre el aumento de las resistencias de los aislados clínicos y sobre la resistencia intrínseca de esta bacteria a colistina. La reciente aparición de algunas cepas resistentes a carbapenémicos debe mantenernos alerta sobre este patógeno oportunista.

## Conflictos de intereses

El autor declara no tener ningún conflicto de intereses.

## Bibliografía

1. Casagrande Proietti P, Passamonti F, Pia Franciosini M, Asdrubali G. *Hafnia alvei* infection in pullets in Italy. *Avian Pathol.* 2004;33:200-4.
2. Gelev I, Gelev E, Steigerwalt AG, Carter GP, Brenner DJ. Identification of the bacterium associated with haemorrhagic septicaemia in rainbow trout as *Hafnia alvei*. *Res Microbiol.* 1990;141:573-6.
3. Lorenzo JM, Cachaldora A, Fonseca S, Gómez M, Franco I, Carballo J. Production of biogenic amines "in vitro" in relation to the growth phase by *Enterobacteriaceae* species isolated from traditional sausages. *Meat Sci.* 2010;86:684-691.
4. Carrizosa E, Benito MJ, Ruiz-Moyano S, Hernández A, Villalobos MDC, Martín A, et al. Bacterial communities of fresh goat meat packaged in modified atmosphere. *Food Microbiol.* 2017;65:57-63.
5. Rodríguez-Guardado A, Boga JA, De Diego I, Pérez F. Bacteriemias producidas por *Hafnia alvei* en una unidad de cuidados intensivos neonatales. *Med Clin.* 2006;126:355-6.
6. Moreno MC, Troncoso VM, De la Coria De La PH, Ledermann DW, Del Valle MG, Núñez FC, et al. Reporte de cuatro casos clínicos de bacteriemia por *Hafnia alvei* en una unidad cardio-quirúrgica pediátrica. *Rev Chil Infect.* 2010;27:40-4.
7. Conte M, Castagnola E, Venzano P, Tasso L, Giachino R. Bacteremia caused by *Hafnia alvei* in a human immunodeficiency virus-infected child. *Pediatr Infect Dis J.* 1996;15:182-3.
8. Laupland KB, Church DL, Ross T, Pitout JD. Population-based laboratory surveillance of *Hafnia alvei* isolates in a large Canadian health region. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2007;5:12.
9. Benito MH, Hernández RS, Fernández-Reyes MJ, Hernando S. Sepsis por *Hafnia alvei* en una paciente con trasplante renal. *Nefrologia.* 2008;28:470-1.
10. Millán Rodríguez MR, Muñoz Pérez MA, Meseguer Frutos MD, Cano Sánchez A, Román López Andreu F, Soriano Palao J. Neumonía nosocomial por *Hafnia alvei*. *An Med Interna.* 2003;20:595-6.
11. Galeas F, De la Torre FJ, Prada JL, Del Arco A. Neumonía por *Hafnia alvei* en paciente infectado por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Enferm Infect Microbiol Clin.* 2001;19:41-2.
12. Ruiz-Moreno JM, Alio JL, De la Hoz F. Delayed-onset postoperative endophthalmitis caused by *Hafnia alvei*. *Eur J Ophthalmol.* 2001;11:189-92.
13. Litrenta J, Oetgen M. *Hafnia alvei*: A new pathogen in open fractures. *Trauma Case Reports.* 2017;8:41-5.
14. Hidalgo Tenorio C, Pasquau Liano J. Tuberculosis pulmonar bilateral y sobreinfección respiratoria por *Hafnia alvei*. *An Med Interna.* 2002;19:547-8.
15. Klapholz A, Lessnau KD, Huang B, Talavera W, Boyle JF. *Hafnia alvei*. Respiratory tract isolates in a community hospital over a three-year period and a literature review. *Chest.* 1994;105:1098-100.
16. Crandall C, Abbott SL, Zhao YQ, Probert W, Janda JM. Isolation of toxigenic *Hafnia alvei* from a probable case of hemolytic uremic syndrome. *Infection.* 2006;34:227-9.
17. Mojtabaei A, Siadati A. *Enterobacter hafnia* meningitis. *J Pediatrics.* 1978;93:1062-3.
18. Günther H, Pennekamp A. Clinical significance of extraintestinal *Hafnia alvei* isolates from 61 patients and review of the literature. *Clin Infect Dis.* 1996;22:1040-5.
19. Rodríguez-Guardado A, Boga JA, Diego ID, Ordás J, Álvarez ME, Pérez F. Clinical characteristics of nosocomial and community-acquired extraintestinal infections caused by *Hafnia alvei*. *Scand J Infect Dis.* 2005;37:870-2.
20. Podschun R, Fischer A, Ullmann U. Characterisation of *Hafnia alvei* isolates from human clinical extra-intestinal specimens: haemagglutinins, serum resistance and siderophore synthesis. *J Med Microbiol.* 2001;50:208-4.
21. Janda JM, Abbott SL. The genus *Hafnia*: from soup to nuts. *Clin Microbiol Rev.* 2006;19:12-8.
22. Emslie-Smith AH. *Hafnia alvei* strains possessing the alpha antigen of Stamp and Stone. *J Pathol Bacteriol.* 1961;81:534-6.
23. Harada K, Sihimizu K, Matsuyama T. *Hafnia* isolated from men. *Gumma J Med Sci.* 1957;6:109-12.
24. Ratnam 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.
25. Sakazaki R. Studies on the *Hafnia* group of *Enterobacteriaceae*. *Jpn J Med Sci Biol.* 1961;14:223-41.
26. Albert MJ, Alam K, Islam M, Montanaro J, Rahaman AS, Haider K, et al. *Hafnia alvei*, a probable cause of diarrhea in humans. *Infect Immun.* 1991;59:1507-13.
27. Albert MJ, Faruque SM, Ansaruzzaman M, Islam MM, Haider K, Alam K, et al. Sharing of virulence-associated properties at the phenotypic and genetic levels between enteropathogenic *Escherichia coli* and *Hafnia alvei*. *J Med Microbiol.* 1992;37:310-4.
28. Albert M, Alam K, Ansaruzzaman M, Montanaro J, Islam M, Faruque SM, et al. Localized adherence and attaching-effacing properties of nonenteropathogenic serotypes of *Escherichia coli*. *Infect Immun.* 1991;59:1864-8.
29. 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;32:2335-7.
30. Ratnam S. Etiologic role of *Hafnia alvei* in human diarrheal illness. *Infect Immun.* 1991;59:4744-5.
31. Reina J, Hervas J, Borrell N. Acute gastroenteritis caused by *Hafnia alvei* in children. *Clin Infect Dis.* 1993;16:443.
32. Ridell J, Siitonen A, Paulin L, Lindroos O, Korkeala H, Albert MJ. Characterization of *Hafnia alvei* by biochemical tests, random amplified polymorphic DNA PCR, and partial sequencing of 16S rRNA gene. *J Clin Microbiol.* 1995;33:2372-6.
33. Westblom TU, Milligan TW. Acute bacterial gastroenteritis caused by *Hafnia alvei*. *Clin Infect Dis.* 1992;14:1271-2.
34. Seral C, Castillo FJ, Llorente MT, Varea M, Clavel A, Rubio MC, et al. The *eaeA* gene is not found in *Hafnia alvei* from patients with diarrhea in Aragon, Spain. *Int Microbiol.* 2001;4:81-2.
35. Cantarín Extremadura V, Álvarez-Coca González J, Martínez Pérez J, Hernández Milán B, Cabezas Martín B, Rubio Villanueva JL. ¿Es la *Hafnia alvei* un patógeno intestinal? *Rev Esp Pediatr.* 2008;64:455-6.
36. Hernández Milán B, Menéndez-Rivas Villamil M. *Hafnia alvei* en gastroenteritis aguda infantil. *Acta Esp Pediatr.* 1998;48:331.
37. Steigerwalt AG, Fanning GR, Fife-Asbury MA, Brenner DJ. DNA relatedness among species of *Enterobacter* and *Serratia*. *Can J Microbiol.* 1976;22:121-37.
38. Janda JM, Abbott SL, Bystrom S, Probert WS. Identification of two distinct hybridization groups in the genus *Hafnia* by 16S rRNA gene sequencing and phenotypic methods. *J Clin Microbiol.* 2005;43:3320-3.
39. Huys G, Cnockaert M, Abbott SL, Janda JM, Vandamme P. *Hafnia paralvei* sp. nov., formerly known as *Hafnia alvei* hybridization group 2. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2010;60:1725-8.
40. Rodríguez LA, Vivas J, Gallardo CS, Acosta F, Barbeyto L, Real F. Identification of *Hafnia alvei* with the MicroScan WalkAway system. *J Clin Microbiol.* 1998;37:4186-8.
41. Wang TK, Yam WC, Yuen KY, Wong SS. Misidentification of a mucoid strain of *Salmonella enterica* serotype choleraesuis as *Hafnia alvei* by the Vitek GN+ card system. *J Clin Microbiol.* 2006;44:4605-8.
42. Abbott SL, Molera S, Green N, Tran RK, Wainwright K, Janda JM. Clinical and laboratory diagnostic characteristics and cytotoxigenic potential of *Hafnia alvei* and *Hafnia paralvei* strains. *J Clin Microbiol.* 2011;49:3122-6.
43. Guiney PA, Valkenburg JJ. Diagnostic value of a *Hafnia*-specific bacteriophage. *J Bacteriol.* 1968;96:564.
44. Savini V, Argentieri AV, Marollo R, Carretto E, Fazii P, D'Antonio D, et al. The Italian *Hafnia alvei* strain LMG 27376 is *Hafnia paralvei*. *Vet Microbiol.* 2013;167:742-3.
45. Tian B, Moran NA. Genome Sequence of *Hafnia alvei* bta3\_1, a Bacterium with Antimicrobial Properties Isolated from Honey Bee Gut. *Genome Announc.* 2016;4:e00439-16.
46. Gu Z, Liu Y, Shen L, Liu X, Xiao N, Jiao N, et al. *Hafnia psychrotolerans* sp. nov., isolated from lake water. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2015;65:971-4.
47. Viana ES, Campos ME, Ponce AR, Mantovani HC, Vanetti MC. Biofilm formation and acyl homoserine lactone production in *Hafnia alvei* isolated from raw milk. *Biol Res.* 2009;42:427-36.
48. Vivas J, Padilla D, Real F, Bravo J, Grasso V, Acosta F. Influence of environmental conditions on biofilm formation by *Hafnia alvei* strains. *Vet Microbiol.* 2008;129:150-5.
49. Padilla D, Acosta F, García JA, Real F, Vivas JR. Temperature influences the expression of fimbriae and flagella in *Hafnia alvei* strains: an immunofluorescence study. *Arch Microbiol.* 2009;191:191-8.

50. Padilla D, Acosta F, Bravo J, Grasso V, Real F, Vivas J. Invasion and intracellular survival of *Hafnia alvei* strains in human epithelial cells. *J Appl Microbiol*. 2008;105:1614-22.
51. Imran M, Desmasures N, Coton M, Coton E, Le Flèche-Matéos A, Irlinger F, et al. Safety assessment of Gram-negative bacteria associated with traditional French cheeses. *Food Microbiol*. 2019;79:1-10.
52. De Frutos M, López E, Aragón R, López-Urrutia L, Ramos C, Domínguez-Gil M, et al. Descriptivo de *Hafnia alvei* aisladas en coprocultivo: aproximación a su valoración en clínica. *Rev Esp Quimioter*. 2017;30:280-4.
53. 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.
54. Lancelevee J, Bret L, David K, Di Martino P. Antibiotic resistance and adherence properties of *Hafnia alvei* clinical isolates: a 19-month study in the hospital of Orleans, France. *J Chemother*. 2007;19:677-81.
55. Savini V, Catavitello C, Talia M, Balbinot A, Febbo F, Pompilio A, et al. Isolation of colistin-resistant *Hafnia alvei*. *J Med Microbiol*. 2009;58:278-80.
56. Jayol A, Saly M, Nordmann P, Ménard A, Poirel L, Dubois V. *Hafnia*, an enterobacterial genus naturally resistant to colistin revealed by three susceptibility testing methods. *J Antimicrob Chemother*. 2017;72:2507-11.
57. Zurfluh K, Stephan R, Widmer A, Poirel L, Nordmann P, Nüesch HJ, et al. Screening for fecal carriage of MCR-producing *Enterobacteriaceae* in healthy humans and primary care patients. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2017;6:28.
58. Skurnik D, Nucci A, Ruimy R, Lasocki S, Muller-Serieys C, Montravers P, et al. Emergence of carbapenem-resistant *Hafnia*: the fall of the last soldier. *Clin Infect Dis*. 2010;50:1429-31.
59. Girlich D, Naas T, Bellais S, Poirel L, Karim A, Nordmann P. Biochemical-genetic characterization and regulation of expression of an ACC-1-like chromosome-borne cephalosporinase from *Hafnia alvei*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44:1470-8.
60. Nadjar D, Rouveau M, Verdet C, Donay L, Herrmann J, Lagrange PH, et al. Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* producing transferable AmpC-type beta-lactamase (ACC-1) originating from *Hafnia alvei*. *FEMS Microbiol Lett*. 2000;187:35-40.