

Brucelosis, aspectos que limitan su justa valoración

Brucellosis, aspects limiting its accurate valuation



Guillermo Barreto Argilagos¹, Herlinda Rodríguez Torrens¹, Herlinda Barreto Rodríguez² <https://eqrcode.co/a/p11NnY>

¹Universidad de Camagüey. Carretera Circunvalación Norte km 5½.

²Universidad Médica Carlos J. Finlay. Camagüey

RESUMEN: La brucelosis, una de las zoonosis más antiguas, aún figura entre las más extendidas en el mundo contemporáneo. Esta persistencia, en parte obedece al descuido que se tuvo en un momento, al considerar que se había erradicado. Su subvaloración actual quizás se deba a sesgos en las investigaciones que distorsionan su impacto real debido a que, casi la totalidad de lo investigado durante 133 años, se ha centrado en el fenotipo planctónico de *B. melitensis*, no en su comportamiento como *biofilm* y a que las medidas para su prevención y control responden a esos resultados. Esta reseña tuvo como objetivo brindar elementos, ausentes en la generalidad de lo publicado, para una comprensión más próxima al fenómeno denominado brucelosis.

Palabras clave: bacterias planctónicas, bacterias *biofilm*, *Brucella melitensis*, brucelosis, zoonosis.

ABSTRACT: Brucellosis, one of the ancient zoonoses, is still among the most widespread in the world today. This persistence is due in part to the misunderstanding behavior at a certain point in time, when the disease was considered to have been eradicated. Its current underestimation may be due to research biases that distort its real impact since almost all research over 133 years has focused on the *B. melitensis* planktonic phenotype and not in its behavior as biofilm; and because its prevention and control measures respond to these results. The purpose of this review was to provide elements, which were not previously published, for a closer understanding of the disease known as brucellosis.

Key words: planktonic bacteria, *biofilm* bacteria, *Brucella melitensis*, brucellosis, zoonosis.

INTRODUCCIÓN

La brucelosis es una zoonosis que ha acompañado al ser humano desde la época en la que comenzó a pastorear cabras, unos 8 000 años a.d.e. Quizás por ello *Brucella melitensis*, además de provocar la enfermedad en estos pequeños rumiantes, sus reservorios por excelencia, tenga ventajas adaptativas que la convierten en la más virulenta para la especie pensante (1). Pese al tiempo dedicado a su estudio, aún figura entre los flagelos que laceran muy en particular a los países en vías de desarrollo, en los que se ha hecho endémica. Su persistencia obedece, en parte, al exceso de confianza que sobrevino cuando, en la segunda mitad del pasado siglo, se consideró que estaba bajo control (2).

En la actualidad, quizás por reminiscencias de lo expuesto, figura entre las zoonosis subvaloradas (2). Nada más elocuente al respecto que la sentencia de Flores-Castro (3) "...ejemplifica la falta de interacción de los sectores de salud pública y veterinaria, haciendo de esta infección una de las zoonosis más frecuentes en el mundo".

A lo expuesto vale sumar el efecto de dos sesgos que distorsionan la justa valoración del comportamiento de *B. melitensis*, como prototipo, y la consecuente zoonosis: 1) lo investigado durante 133 años se ha centrado en el fenotipo planctónico de esta especie, no como *biofilm*, 2) las medidas para la prevención,

el tratamiento y el control de la zoonosis responden a esos resultados (4).

Por lo antes expuesto, esta reseña tuvo como objetivo brindar elementos, ausentes en mucho de lo publicado, para una comprensión más próxima al fenómeno denominado brucelosis.

PARTE ESPECIAL

Género *Brucella*: especies que lo conforman

El género *Brucella* aúna a las especies *B. melitensis*, *B. ovis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. canis*, *B. ceti*, *B. pinnipedialis*, *B. microti* y *B. inopinata*. Aunque pueden subsistir en el medio ambiente, con frecuencia se les encuentra asociadas a hospedadores con los que establecen nexos preferenciales, fruto de cambios adaptativos a lo largo del tiempo (1) no obligatoriamente exclusivos (5).

Aspectos morfológicos y fisiológicos clásicos

B. melitensis es la especie tipo del género. Los caracteres morfológicos representativos son: cocobacilos (0,5-0,7 × 0,6-1,5 μm) gram negativos aislados, en parejas, raramente en cadenas cortas o grupos. Son asporógenos e inmóviles, carentes de cápsula, aunque se han reportado estructuras compatibles en algunos casos (6).

*Autor para la correspondencia: Guillermo Barreto Argilagos. E-mail: guillermo.barreto@reduc.edu.cu

Recibido: 07/08/2020

Aceptado: 14/01/2021

Por su fisiología clasifican como bacterias aeróbicas. Aspecto cuestionable dado que, tanto el oxígeno como los nitratos, pueden actuar de aceptores finales en el sistema de transporte de electrones de su cadena respiratoria y la mayoría requiere de un suplemento de CO₂ en los aislamientos primarios, requisito propio de bacterias aerotolerantes o microaerofilicas. Crecen entre 20 y 40°C, y resulta óptimo a 37°C a pH entre 6,6 -7,4. No fermentan los carbohidratos convencionales ni lisan hemáties. Son patógenos intracelulares facultativos, no toxigénicos, transmisibles a un amplio rango de especies animales, incluidos los humanos (6).

Dos fenotipos de un mismo género. ¿Se ha estudiado el correcto?

Estas precisiones fenotípicas, con las que cumple *B. melitensis*, responden a patrones de la sistemática bacteriana establecidos desde finales del siglo XIX, vigentes en la actualidad. Corresponde a lo evaluado al fenotipo planctónico de esta especie, e introduce la primera fuente de error, motivo de esta revisión. Y es que esta fase solo representa al 1 % de estas bacterias, en tanto el 99 % lo hace como bacterias *biofilm* (7). Una información más actual (8) postula que los porcentajes reales son 0,1 y 99,9 %, respectivamente; en lo adelante se asumirá esta última.

Una primera diferencia, que podría parecer intrascendente, radica en cómo se organizan estas bacterias. Las planctónicas (también denominadas de libre flotación o *swimming*) lo hacen como cocobacilos aislados, en parejas; raramente, en cadenas cortas o grupos. Sin embargo, en condiciones naturales las bacterias alcanzan un paso superior de madurez en el que se envuelven en estructuras tridimensionales complejas llamadas *biofilm*. Se trata de una matriz conformada por polímeros extracelulares producidos por las bacterias cuando se adhieren entre sí y/o a superficies en interfaces (líquido-sólido, aire-líquido, aire-sólido) (9). Se pueden formar microcolonias a partir de la adhesión de un tipo bacteriano o mezclas diversas, denominadas consorcios, asociadas para un mejor aprovechamiento de los nutrientes y factores ecológicos en el sitio de unión (8).

Los agregados de bacterias, no adheridos a superficies, tienen muchas de las propiedades del *biofilm*. Tanto en ellos (microcolonias) como en los *biofilms*, se organizan como bacterias sésiles (como hiladas de ladrillos). En estas comunidades exhiben un fenotipo alterado (crecimiento y transcripción génica) con respecto a las planctónicas que fundamenta su persistencia en ambientes adversos, incluso de extremofilia (4,10).

Aunque esta verdad, extensible al dominio Bacteria, salió a la luz en las postrimerías de los años 70 del pasado siglo, durante mucho tiempo solo se le asoció al fenómeno de resistencia y tolerancia a antibióticos, desinfectantes, metales pesados y ambientes extremos

por su pH o temperatura (11,12,13). Así fue hasta que los reiterados fallos en la terapéutica, en particular la intrahospitalaria, y la creciente cronicidad de múltiples enfermedades, se asociaron a la participación de bacterias *biofilm* (8).

En aras de cumplir con el objetivo establecido es necesario regresar nuevamente al párrafo dedicado a la morfología planctónica de *Brucella*. Tres publicaciones, entre las que figura *The Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, en su apartado de *Brucella* (6), enfatizan que son bacterias carentes de cápsula, aunque en ocasiones se han reportado estructuras compatibles. Sin embargo, en 2007 (14) se documentó por primera vez la capacidad de *B. melitensis* de formar agregados o microcolonias y, por ende, su potencialidad para desarrollar *biofilm*. Esta hipótesis se ratificó posteriormente (15).

Esta contribución (14) fue un hito en las investigaciones en torno a la zoonosis, muy en particular las debidas a *B. melitensis*. Como *biofilm*, adquiría ventajas adaptativas significativas: 1) una protección más efectiva frente a los mecanismos defensivos del hospedero; 2) mayor adhesividad, tanto a receptores del hospedero como a superficies en general; 3) un incremento notable en la resistencia a los antibióticos y cambios de pH extremos. Finalmente, y no por ello menos importante, se pronosticaba que este fenotipo podría explicar la tendencia a la cronicidad de la enfermedad.

Como complemento a lo apuntado, otra de las especies que de conjunto con *B. suis* resultan patógenas a humanos bajo condiciones de microaerofilia, vale añadir que *B. abortus* forma agregados celulares y *biofilm* que le permiten una mayor tolerancia a la desecación y otros factores adversos (4).

Retomando lo declarado en el párrafo dedicado a caracteres morfológicos, una de las cualidades inherentes al género es la motilidad negativa, debida a la ausencia de flagelos. Sin embargo, en la investigación de 2007 (14) se demostró que los genes para este órgano locomotor, así como los codificados en el operón *virB*, responsables de un sistema secretor de factores de virulencia superficiales, estaban regulados por *quorum sensing*. Posteriormente se confirmó que se trata de un flagelo polar expresado durante la fase exponencial de crecimiento en medios enriquecidos y que los genes involucrados son necesarios para la infección *in vivo* de ratones y cabras (16).

En la abundante bibliografía en torno al comportamiento bacteriano en su doble modalidad bacterias planctónicas - bacterias *biofilm*, la motilidad individual (*swimming*), debida a flagelos, confiere ventajas para acceder a receptores superficiales presentes en las interfaces sólido - líquido a los que adherirse (17), dando así inicio a las sucesivas etapas que definen la formación del *biofilm*. Secuencia que, al igual que múltiples conductas bacterianas colectivas, está condicionada por el *quorum sensing*. Mecanismo de comu-

nicación entre bacterias que posibilita las estrategias adoptadas por estas procariontas ante las cambiantes condiciones del entorno durante la infección (8). Dada su importancia, más adelante se hará una breve caracterización del mismo.

Hasta aquí, solo se han discutido las contradicciones relacionadas con la morfología propia de ambos fenotipos; en lo fisiológico ocurre otro tanto. Muchos de los ejemplos aportados guardan relación con el incremento de la resistencia a los antibióticos debida a *biofilms*. Esfuerzo más que justificado si se considera que la misma se incrementa 1000 veces, incluso más. Una de las explicaciones al fenómeno radica en la bajísima velocidad de crecimiento de las bacterias *biofilm*; también en la reducción de su actividad metabólica, en general (10).

¿Es preciso desechar el acervo microbiológico de casi dos siglos?

¿Por qué si el 99,9 % de las bacterias se presenta como *biofilm*, aún se investigan sus formas planctónicas? ¿Será que *Brucella melitensis* es una excepción?

Aunque en el orden de la interrogante *B. melitensis* está al final, hay que aclarar que para nada constituye excepción alguna. Justamente, en concordancia con su aval zoonótico, fue el primer patógeno bacteriano intracelular escogido para dilucidar su mecanismo de *quorum sensing*, el “lenguaje” que rige el “comportamiento social bacteriano” en los *biofilms* (15).

Por sorprendente que resulte, el primero en describir *biofilms* en preparaciones hechas a partir de raspados de dientes (1676, 1683) fue el holandés Antonij van Leeuwenhoek. Obviamente, sin usar ese término. Pese a la anuencia y publicación de tales observaciones por parte de la *Royal Society of London for Improving Natural Knowledge*, una de las mecenas del conocimiento científico en el siglo XVII, no sobrepasaron la categoría de “curiosidades”, algo más del entorno que rodeaba a la creación más perfecta del Planeta: el ser humano (11). El incansable observador se había adelantado una vez más a su tiempo, pecado imperdonable a la inercia conceptual del momento.

Doscientos años después, Pasteur y Koch, de forma independiente, se adentraron en el universo microbiano que fascinara al holandés y sus coetáneos. Lo hicieron para esclarecer la relación microorganismos-enfermedades, partiendo de un presupuesto básico: “el aislamiento de los mismos en cultivos puros para su caracterización e identificación”. Única elección factible a tan geniales precursores; también para la mayoría de sus relevos hasta el presente. El conocimiento microbiológico acumulado hasta este instante es una sumatoria de cualidades fenotípicas obtenidas de formas planctónicas, muchas cuestionadas a partir de los años 70 bajo la óptica de los ensayos moleculares (11). No se trata de poner sobre la balanza cuánto es correcto o incorrecto, más bien de percepciones acordes al

nivel de desarrollo de la ciencia. No todas erróneas, como se verá a continuación.

¿Qué hacer para controlar una zoonosis cuando el 99,9 % de sus agentes etiológicos se presentan con un fenotipo diferente al evaluado?

De acuerdo a sus manifestaciones clínicas, esta enfermedad puede presentarse de tres formas: aguda, subaguda y crónica (18). Se ha documentado que, en la fase crónica de la infección, *B. abortus* produce *biofilms* como una alternativa de supervivencia (4). Opción perfectamente extensible a *B. melitensis*, como se ha sugerido en investigaciones previas (15). Fenotipos -planctónico y *biofilm*- que concuerdan con el comportamiento general de las enfermedades de etiología bacteriana: las planctónicas son responsables de la fase aguda, en tanto la cronicidad depende del tránsito a *biofilms* (4).

Visto así, los 133 años dedicados, muy en particular a *B. melitensis* en su fase planctónica, no han sido tiempo perdido; tampoco el conferido a otros patógenos, zoonóticos o no. En esta vertiente es de gran valor la información concerniente a la patogenia, a través de las cuales estas formas microscópicas vencen las defensas del hospedero y desencadenan la enfermedad (19).

Durante años se pensó que *B. melitensis*, así como las otras especies zoonóticas del género, carecían de atributos de virulencia al ser negativas a ensayos clásicos para establecer la presencia de exotoxinas, cápsulas, fimbrias y plásmidos codificadores de “islas de patogenidad”. Recientemente, se ha demostrado que esta especie posee un arsenal de genes de virulencia que condicionan su actuar como entidad zoonótica y sus potencialidades para desencadenar tanto las fases agudas como las crónicas de la enfermedad (18).

El éxito de estos mecanismos para burlar las defensas del hospedero motivó a lo largo de casi un siglo la elaboración de vacunas y tratamientos con antibióticos. Las primeras han tenido mayor aplicación en la esfera animal, no así en la humana, aunque el endemismo de la enfermedad en pequeños rumiantes evidencia la necesidad de variantes más efectivas (20). La antibioterapia se ha aplicado indistintamente a humanos y animales. Los mejores resultados se han logrado con tratamientos en los que se aplican dos de estos fármacos a la vez. La variante más frecuente combina conrifampicina y doxiciclina. Esta última se puede sustituir por cualquier representante del grupo de las fluoroquinolonas (21). No obstante, en las concentraciones ofertadas, resultan insuficientes para el fenotipo *biofilm* (4).

A la alta resistencia conferida por los *biofilms* se suma el hecho de que alrededor del 80 % de todas las infecciones bacterianas están asociadas a este fenotipo; más del 90 % de las infecciones crónicas de heridas también lo están, según confirman los estudios

realizados por el *USA National Institute of Health* (4). Por estas razones, desde hace varios años, se profundiza en terapias alternativas que, aunque diversas, persiguen objetivos comunes: inhibir la formación de *biofilms* o lograr su dispersión y, con ello, el retorno a formas planctónicas más susceptibles de tratamiento (13). Seguidamente, se describen las más promisorias.

Posibles alternativas para el tratamiento y control de *Brucella* spp. como *biofilm*

Para introducir el tópico nada mejor que una regla de oro universal: “la mejor medida radica en evitar la formación del *biofilm*”. En las superficies inanimadas (lecheras, tanques, mangueras o tuberías, mesetas, etc.) se logra a través de seis pasos: prelimpieza física, lavado con detergentes, enjuague, higienización, enjuague final y secado. El tipo de superficie y su naturaleza físico-química determinan los métodos más adecuados para el tratamiento (17). En el caso de órganos y tejidos, la solución es más compleja. Algunas estrategias anti-*biofilms* en tal sentido no superan el nivel teórico. Otras desafían los retos contemporáneos y comprenden el empleo de enzimas, bacteriófagos, liposomas, inhibidores de *quorum sensing*, péptidos antimicrobianos, nanopartículas y probióticos (8, 22). A continuación, se debate al respecto.

Gran parte de las enzimas valoradas para la dispersión de *biofilms* se enfocan a las originadas por *Staphylococcus aureus* y otras bacterias gram positivas. En menor grado, apuntan a gram negativas como *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. En ambos casos se enfocan a pacientes humanos hospitalizados por afecciones crónicas generadas por estas especies y los *biofilms* formados en las superficies de catéteres, prótesis o heridas infectadas (13). Quizás no la opción idónea, en la práctica veterinaria, para la cronicidad asociada a brucelosis.

El empleo de bacteriófagos para combatir enfermedades bacterianas (fagoterapia) es una práctica de años. Su uso para contrarrestar la formación de *biofilms*, o promover su dispersión, es más reciente y cuenta con abundantes adeptos (10). Su aplicación ha sido exitosa en mezclas de hidrogel para preservar catéteres. Mediante ingeniería genética se han logrado fagos recombinantes con información para enzimas que degradan la matriz exopolisacárida bacteriana. Con esta tecnología se producen “cocteles de fagos” destinados a la erradicación de los *biofilms* (8,10). Pese a lo halagüeño de ambas variantes, no están exentas de desventajas; una asociada a la producción de altos niveles de endotoxinas si se emplean en infecciones provocadas por bacterias gram negativas (23) riesgo que le descarta para casos de brucelosis.

Los liposomas son vesículas esféricas pequeñísimas, constituidas por una bicapa de fosfolípidos que se orienta con sus extremos hidrofílicos hacia el exterior e interior de la vesícula y los hidrofóbicos al

centro de la bicapa. Admiten la incorporación de fármacos en su núcleo acuoso con relativa facilidad. Su toxicidad por esta vía es mínima al paciente, en tanto la acción bactericida resulta elevada debido a la fusión con la envoltura externa bacteriana. Son eficaces contra *biofilms*, dado que los antibióticos no se exponen a la inactivación por enzimas acumuladas en la matriz ni se limita su difusión a través de la misma (24). Podrían ser una opción ante casos crónicos de la zoonosis.

Para abordar la siguiente propuesta es necesario aclarar qué es el *quorum sensing*, también referido como “percepción de quórum” o “autoinducción” en publicaciones de habla hispana. Se trata de un mecanismo de regulación de la expresión genética dependiente de la densidad poblacional bacteriana. Consta de una enzima que cataliza la síntesis de una molécula difusible (molécula señal o autoinductora) y un receptor para la misma en sitios reguladores de la transcripción. Cuando molécula y receptor interactúan se reprograma la expresión de múltiples genes, incluidos los codificadores para la enzima. En gram negativas las autoinductoras son acil-homoserina lactonas (acil-HSLs) (25).

Al adherirse las bacterias, entre sí o a superficies, se excreta una molécula señal. Cada vez que se cumple un ciclo de división celular ocurre otro tanto, por lo que su concentración aumenta en concordancia con el incremento poblacional. Constituye el recurso a través del cual las bacterias “censan” su concentración hasta lograr la conveniente (*quorum*). Cuando ocurre, el autoinductor se une al receptor y se induce la expresión de genes, dando lugar a comportamientos sociales: invasión de tejidos y órganos mediados por una motilidad colectiva (*swarming*), producción de *biofilms* y fimbrias, secreción de toxinas y enzimas, e incluso, abandono del hospedero (26). Una coordinación imposible a bacterias planctónicas.

Una vez expuestos los elementos claves del *quorum sensing* es evidente que todo cuanto interfiera su función (colectiva o independiente) bloquea el mecanismo a través del cual las bacterias controlan su nivel poblacional. A las estrategias sustentadas en este principio se les denomina *quorum quenching* (QQ). Son una opción contemporánea para enfrentar bacterias patógenas y prevenir la formación de *biofilms*. Una variante consiste en la degradación o inactivación conformacional de las moléculas autoinductoras. Otra se sustenta en el uso de análogos a las moléculas señal. Esta similitud genera competencias por el receptor, e incluso su bloqueo. Una información más detallada puede encontrarse en revisiones especializadas del tema (25,27).

Los péptidos antimicrobianos (PAMs) son de pequeña talla (25-30 kDa). Están presentes en animales, plantas y microorganismos. En organismos superiores participan en respuestas de la inmunidad innata ante patógenos invasivos; otros ejercen una función modu-

ladora de la respuesta inmune. A estas cualidades se suman otras que son las que motivan su inclusión en esta propuesta y guardan relación con el tipo de estructura (en particular la secundaria), propiedades físico-químicas (carga neta, hidrofobicidad, carácter anfipático) y solubilidad de estos PAMs (21).

En muchos casos, la acción antimicrobiana de los PAMs se asocia a su capacidad de incrementar la permeabilidad de la membrana citoplasmática, incluso ocasionar la formación de poros. Otros la penetran e inhiben los procesos de síntesis de ADN, ARN y proteínas, por lo que resultan efectivos tanto en bacterias en crecimiento como en reposo (21). Estas propiedades antimicrobianas inicialmente se evaluaron en bacterias planctónicas. Sin embargo, en la última década se ha producido un alza impresionante en el número de publicaciones enfocadas a su uso para enfrentar la antibiorresistencia generada por los *biofilms* (28).

La efectividad de estos péptidos frente a los *biofilms* se explica a través de diversos mecanismos. Uno consiste en el bloqueo de los receptores de superficie a los que se adhieren las bacterias. Una variante plantea la unión de los PAMs a los elementos de adhesión bacterianos. Por supuesto, pueden ocurrir ambos efectos y, en cualquiera de los casos, se inhibe la adhesión, paso inicial en la formación de los *biofilms*. Otro efecto radica en provocar la muerte de las primeras bacterias colonizadoras de la superficie. Además, pueden bloquear el *quorum sensing* y con ello la formación de *biofilms* (21,29).

El uso de plantas medicinales en la terapéutica humana y animal constituye una práctica milenaria muy efectiva. En este caso se saca a colación, como prueba de ese divorcio, que en ocasiones se impone al tratar de encontrar soluciones a un problema desde ópticas diferentes. Existen evidencias de la efectividad de extractos elaborados a partir de 37 especies de plantas para el tratamiento de la brucelosis (18). Aunque sus autores no asocian los resultados a la participación de péptidos antimicrobianos, no por ello pueden excluirse.

Las nanopartículas están en el orden de los 100 nm, o menores. Este tamaño les permite penetrar la pared bacteriana y romper la membrana citoplasmática; también actuar sobre el ADN, interfiriendo en su replicación y expresión. Razones que las convierten en opciones por excelencia para enfrentar las enfermedades infecciosas y los retos impuestos por los *biofilms* en esta era posantibiótica (21). Pueden elaborarse a partir de materiales diversos: plata, oro, óxidos metálicos y fluoruro de magnesio. Se emplean solas o adheridas a superficies, también asociadas con antibióticos. Las combinaciones desarrolladas a partir de oro y gentamicina son efectivas tanto para la dispersión de *biofilms* como para inhibir su formación (21). Dada la creciente aceptación de la nanotecnología en la actualidad, muy bien podría ser una de las opciones de elección.

Finalmente, corresponde el turno a los probióticos, denominación aplicada a los alimentos (o cápsulas) contentivos de microorganismos vivos que, al suministrarse en la concentración adecuada, se instauran en el intestino y promueven beneficios en la salud del hospedero (30). Los probióticos compiten con los microorganismos productores de *biofilms* por un sustrato y nicho común. Una vez adheridos se multiplican y forman *biofilm*. Para evitar competidores próximos, segregan antimicrobianos (antagonismo o antibiosis); el ácido láctico es un ejemplo (30,31). Se trata de la variante con mayor aplicación en la esfera veterinaria como promotores del crecimiento; sin embargo, requieren de un mínimo de condiciones para su conservación y propagación no siempre disponibles en las granjas y unidades básicas de producción (31-33).

Existen variantes más simples y con igual efectividad. Su paradigma internacional lo representan los microorganismos eficientes (EM), utilizados tanto para incrementar parámetros productivos como de salud en diversas especies animales. En Cuba, se han logrado mezclas microbianas similares (IH-plus) en la Estación Experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey (31). En Camagüey destacan, en igual sentido, los microorganismos autóctonos multipropósitos (MAM) (33). Quizás por allí, sin obviar las higienizaciones necesarias en las vaquerías, marche la solución al fenómeno analizado.

Cuál es la opción más adecuada es algo a demostrar. Para ello es preciso incluir la variable *biofilms* en los estudios futuros de esta zoonosis. Solo así se logrará una información real de su comportamiento; también las respuestas adecuadas para un control más efectivo. Un ejemplo del por qué ha de ser así lo ilustran las numerosas incógnitas latentes en un minucioso artículo de revisión de este propio año (34). Sus autores notifican la alarmante prevalencia de *Brucella* spp. en derivados lácteos en países del Medio Oriente. A manera de conclusiones, apelan a extremar medidas en toda la cadena productiva, para así lograr productos que no atenten contra la salud humana. En la detallada revisión no aparece ni una vez la palabra *biofilm*.

CONCLUSIONES

Una milenaria zoonosis persiste en la actualidad, afectando los niveles productivos y la salud de especies animales, también de los humanos. Gran parte de la información para su comprensión y control deriva de lo investigado a formas planctónicas de *Brucella* spp. La extensión de estos estudios a sus fenotipos como *biofilm*, contribuiría a una mejor comprensión de esta zoonosis, también al empleo de alternativas más efectivas para su control.

REFERENCIAS

1. Fournié G, Pfeiffer DU, Bendrey R. Early animal farming and zoonotic disease dynamics: modelling brucellosis transmission in Neolithic goat

- populations. R. Soc. open sci. 2017;4:160943. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1098/rsos.160943>
2. Barreto G, Rodríguez H. Capítulo 11. Enfermedades bacterianas frecuentes en las cabras. En: Producción del ganado caprino en Cuba. Editores Adela Bidot y Juan J. Paretas. La Habana. 2018;231 páginas. ISBN: 978-959-7198-17-8.
 3. Flores-Castro R. La situación actual de las zoonosis más frecuentes en el mundo. Gac Méd Méx. 2010;146:423-429.
 4. Tang T, Chen G, Guo A, Xu Y, Zhao L, Wan M. et al. Comparative proteomic and genomic analyses of *Brucella abortus* biofilm and planktonic cells. Molecular Medicine Reports. 2020;21:731-743.
 5. Li Z, Wang X, Zhu X, Wang M, Cheng H, Li D, et al. Molecular Characteristics of *Brucella* Isolates Collected From Humans in Hainan Province, China. Front. Microbiol. 2020;11:452. doi:[10.3389/fmicb.2020.00452](https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00452)
 6. Corbel MJ, Banai M. *Brucella*. Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria. 2015;1-30. doi: [10.1002/9781118960608.gbm00807](https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00807)
 7. Sanclement JA, Webster PL, Thomas J, Ramadan HH. Bacterial in Surgical Specimens of Patients with Chronic Rhinosinusitis. Laryngoscope. 2005;115:578-582.
 8. Samal S, Das PK. Microbial Biofilms: Pathogenicity and Treatment strategies. Pharma Tutor. 2018;6(1):16-22.
 9. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. Annu Rev Microbiol. 1995;49:711-745.
 10. Jamal M, Tasneem U, Hussain T, Andleeb S. Bacterial Biofilm: Its Composition, Formation and Role in Human Infections. Research & Reviews: Journal of Microbiology and Biotechnology. 2015;4(3): Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/285228261_Bacterial_Biofilm_Its_Composition_Formation_and_Role_in_Human_Infections?enrichId=rgreq-040fc
 11. Barreto G, Rodríguez H. Biofilms bacterianos versus antimicrobianos. Nutracéuticos: una opción promisoriosa (Artículo de revisión). Rev Prod Anim. 2010;22(2):20-30.
 12. Barreto G, Rodríguez H, Barreto H. Comportamiento in vitro de *Escherichia coli* enterotoxigénica ante concentraciones crecientes de cobre. Rev Prod Anim. 2016;28(1):42-46.
 13. Fleming D, Rumbaugh KP. Approaches to Dispersing Medical Biofilms. Microorganisms. 2017;5:15. doi:[10.3390/microorganisms5020015](https://doi.org/10.3390/microorganisms5020015). Disponible en: <http://www.mdpi.com/journal/microorganisms>
 14. Uzureau S, Godefroid M, Deschamps Ch, Lemaire J, De Bolle X, Letesson JJ. Mutations of the Quorum Sensing-Dependent Regulator VjbR Lead to Drastic Surface Modifications in *Brucella melitensis*. J Bacteriol. 2007;189(16):6035-6047.
 15. Godefroid M, Svensson MV, Cambier P, Uzureau S, Mirabella A, de Bolle X, et al. *Brucella melitensis* 16M produces a mannan and other extracellular matrix components typical of a biofilm. FEMS Immunol Med Microbiol. 2010;59:364-377.
 16. Ferooz J, Lemaire J, Letesson JJ. Role of FlbT in flagellin production in *Brucella melitensis*. Microbiolo. 2011;157:1253-1262
 17. Galié S, García-Gutiérrez C, Miguélez EM, Villar CJ, Lombó F. Biofilms in the Food Industry: Health Aspects and Control Methods. Front Microbiol. 2018;9:898. doi: [10.3389/fmicb.2018.00898](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00898)
 18. Alizadeh M, Safarzadeh A, Bahmani M, Beyranvand F, Mohammadi M, Kimia Azarbaijani K, et al. Brucellosis: Pathophysiology and new promising treatments with medicinal plants and natural antioxidants. Asian Pac J Trop Med. 2018;11(11):597-608.
 19. Glowacka P, Zakowska D, Naylor K, Niemcewicz M, Bielawska-Drózd A. *Brucella* - Virulence Factors, Pathogenesis and Treatment. Polish J Microbiol. 2018;67(2):151-161.
 20. Salmon-Divon M, Kornspan D. Transcriptomic analysis of smooth versus rough *Brucella melitensis* Rev.1 vaccine strains reveals insights into virulence attenuation. International Journal of Medical Microbiology. 2020 [citado 30 Abril 2020]; 310: 151363. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2019.151363>
 21. Di Luca M, Maccari G, Nifosi R. Treatment of microbial biofilms in the post-antibiotic era: prophylactic and therapeutic use of antimicrobial peptides and their design by bioinformatics tools. MINIREVIEW. Pathogens and Disease. 2014;70:257-270.
 22. Lee B, Kim SE. The Inhibitory Effect of Probiotics on the Growth and Biofilm Formation of *Salmonella* Sp. Journal of Emerging Investigators. 2019 [citado 30 Abril 2020]; 2 (1). Disponible en: <http://www.emerginginvestigators.org>
 23. Segundo N, Hernández E, López O, Torres O. Los bacteriófagos como una alternativa en el tratamiento de enfermedades infecciosas Bacterianas (Fagoterapia). Revisión Bibliográfica. Rev Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. 2010;4(3):17-26.
 24. Sousa C, Henriques M, Oliveira R. Mini-review: Antimicrobial central venous catheters--recent advances and strategies. Biofouling. 2011;27:609-620.
 25. Jiang Q, Chen J, Yangn C, Yin Y, Yao K. Quorum Sensing: A Prospective Therapeutic Target for Bacterial Diseases. Review Article. BioMed Research International. Article ID. 2019 [citado 30 Abril 2020]; 2015978. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12915-019-0597-8>

- www.researchgate.net/publication/332229340_Quorum_Sensing_A_Prospective_The_rapeutic_Target_for_Bacterial_Diseases
26. Barnwal RP, Kaur M, Heckert A, Gartia J, Varani G. Comparative structure, dynamics and evolution of acyl-carrier proteins from *Borrelia burgdorferi*, *Brucella melitensis* and *Rickettsia prowazekii*. *Biochemical J.* 2020;477:491-508.
 27. Paluch E, Rewak-Soroczynska J, Jedrusik I, Mazurkiewicz E, Jermakow K. Prevention of biofilm formation by quorum quenching. *Applied MicrobiolBiotechnol.*2020;104:1871-1881.
 28. Bormann N, Koliszak A, Kasper S, Schoen L, Hilpert K, Volkmer R. A short artificial antimicrobial peptide shows potential to prevent or treat bone infections. *Scientific RepoRts.* 2017;7:1506. doi:[10.1038/s41598-017-01698-0](https://doi.org/10.1038/s41598-017-01698-0)
 29. Gordya N, Yakovlev A, Kruglikova A, Tulin D, Potolitsina E, Suborova T, et al. Natural antimicrobial peptide complexes in the fighting of antibiotic resistant biofilms: Calliphoravicina medicinal maggots. *PLoS ONE.* 2017;12(3): e0173559. doi:[10.1371/journal.pone.0173559](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173559)
 30. Foughse JM, Zijlstra RT, Willing BP. The role of gut microbiota in the health and disease of pigs. *Animal Frontiers.* 2016;6(3):30-36.
 31. Barreto G, Bidot A, Rodríguez H, Delgado R. Microorganismos autóctonos multipropósito en las producciones caprinas. Ediciones Universidad de Camagüey. 2017. ISBN 978-959-7222-03-3
 32. Vega-Cañizares E, Pérez-Ruano M, Armenteros-Amaya M, Hernández-García JE, Rodríguez-Fernández JC, Valdez-Paneca G. Eficacia de un probiótico sobre *Escherichia coli* K88 en cerdos. *Rev Salud Anim.*2018;40(1).
 33. Barreto G, Rodríguez H, Bertot A, Delgado R. Microorganismos autóctonos multipropósitos (MAM) para el control y prevención de la colibacilosis neonatal porcina. *RevProdAnim.* 2015; 27 (2):16-19.
 34. Abedi AS, Hashempour-Baltorkb F, Alizadeh AM, Beikzadeh S, Hosseini H, Bashiry M, et al. The prevalence of *Brucella* spp. in dairy products in the Middle East region: A systematic review and meta-analysis. *Acta Tropica.* 2020; 202:105241. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105241>

Conflicto de Intereses: Los autores declaran que no existen conflictos de intereses relacionados con el presente artículo

Contribución de los autores: Guillermo Barreto Argilagos, Herlinda Rodríguez Torrens, Herlinda Barreto Rodríguez participaron en la escritura y elaboración del manuscrito. Todos los autores revisaron y aprobaron la versión final del documento.

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)