

Ministerio de Salud Pública
Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”
Departamento de Bacteriología-Micología



**“Confirmación molecular de brucelosis en sospechosos de
un área camagüeyana con focalidad animal. IPK. 2025”**

Tesis para optar por el título de Máster en Bacteriología - Micología

Autora: Dra. Zaily Castillo Carmenate

La Habana, 2025

Ministerio de Salud Pública
Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”
Departamento de Bacteriología-Micología



**“Confirmación molecular de brucelosis en sospechosos de
un área camagüeyana con focalidad animal. IPK. 2025”**

Tesis para optar por el título de Máster en Bacteriología - Micología

Autora: Dra. Zaily Castillo Carmenate

Tutora: Lic. Ana Margarita Obregón Fuentes, Dr. C.

La Habana, 2025

DEDICATORIA

A mi familia:

A mis padres por ser los pilares fundamentales en mi formación desde edades tempranas, porque a pesar de la distancia siempre han estado presente de una manera u otra dándome su apoyo incondicional, por haberme forjado como la persona que soy. Todos mis logros se los debo a ustedes entre los que se incluye este. Gracias por ser los mejores padres del mundo.

A mi hermano que al igual que mis padres ha estado presente siempre que lo he necesitado.

A mis abuelos Nélida y Juan quienes en vida me cuidaron y protegieron y sé que ahora lo continúan haciendo desde el cielo, con ustedes conocí el amor de abuelos, único y diferente a cualquier otro, ese, que te llena de calor desde el corazón. Me harán falta por siempre, los amo y los extraño mucho.

A mis hijos Adilen y Ariel que me brindaron su apoyo, me comprendieron, tuvieron tolerancia e infinita paciencia y cedieron su tiempo para que “Mamá estudie” para permitir así llevar adelante un proyecto que pasó de ser una meta personal a otro emprendimiento más de familia. A ellos, mi infinito amor y gratitud.

A mi esposo por ser el mejor del mundo, el mejor padre, amigo...a ti te debo por el apoyo, el amor, y todo lo que has luchado a mi lado para que hoy yo pueda estar aquí.

A mis profesores gracias por enseñarme todo lo que se y más que eso, guiarme para ser una mejor persona y profesional. Mis especiales agradecimientos a los profesores Ana M Obregón, Odisney Lugo y Eduardo Echevarría, por abrirme las puertas de su laboratorio y depositar desde un inicio su confianza en mí.

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis, si bien ha requerido de esfuerzo y mucha dedicación por parte del autor, no hubiese sido posible su finalización sin la cooperación de todas y cada una de las personas que a continuación menciono, las cuales han sido un pilar importante en la realización de la misma.

Agradecer hoy y siempre a mi familia, gracias por su amor, apoyo y comprensión incondicional, y especialmente a mis padres, por inculcarme los valores que le dan sentido a la vida, por enseñarme a luchar con fuerzas para alcanzar mis metas, por confiar en mí hasta el final.

Gracias a mi esposo, que durante estos años de carrera ha sabido apoyarme en mi superación profesional, desde el momento en que me hice médico hasta la actualidad.

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mi tutora de tesis profesora Lic. Ana Margarita Obregón Fuentes, por darme la oportunidad de ser partícipe en uno de sus proyectos y de poder contar con su capacidad y conocimiento científico, por acogerme en su laboratorio como un miembro más del mismo.

Agradecida por el gran apoyo y paciencia para guiarme durante el desarrollo de la tesis.

Agradecer también a mi asesora Dra. Odisney Lugo, por su importante aporte y participación activa en el desarrollo de esta tesis, destacar su disponibilidad y paciencia, su participación ha enriquecido el trabajo realizado.

Gracias a Maria Teresa, por su apoyo y por siempre estar dispuesta a transmitir sus conocimientos.

Le agradezco también al departamento de Bacteriología Micología por el apoyo brindado.

RESUMEN

Son escasos los estudios que abordan los brotes epidémicos de brucelosis, en individuos asociados entre sí en tiempo y espacio, de una zona endémica con focalidad animal de Cuba. La presente investigación describe variables sociodemográficas, clínico-epidemiológicas, y la confirmación molecular en 49 personas de Esmeralda, Camagüey, en el periodo comprendido entre diciembre 2024 y febrero de 2025. Fueron revisadas encuestas epidemiológicas y se operacionalizaron variables cualitativas y cuantitativas, determinándose frecuencias absolutas y porcentajes. Predominó el sexo masculino (76%), el color de la piel blanca (91,8 %), las edades entre 45 y 54 años (34,7 %), el nivel de escolaridad de secundaria básica (40,8 %), la actividad laboral sin riesgo epidemiológico (61,2 %), fuente de infección la ingestión de productos lácteos (63,3%) y el contacto con los bovinos (51%). Prevalió la fiebre (59,1 %) y las mialgias (55,1%). Igualmente, la doxiciclina (73,5 %) y la rifampicina (53,1%), resultaron los antimicrobianos más utilizados. La confirmación molecular por PCR detectó un 91,6% mientras que la serología lo hizo en un 16,6%, de las muestras clínicas empleadas. Los resultados permitieron confirmar la existencia de un brote epidémico en el municipio de Camagüey lo que sugiere la necesidad de fortalecer las estrategias para la prevención y el control de la brucelosis humana en esta localidad y a nivel nacional.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
1.2 Justificación del estudio	3
1.3 Objetivos	4
II. MARCO TEORICO	5
2.1 Definición y sinonimia	5
2.2 Epidemiología	5
2.3 Brotes epidémicos	6
2.4 Patogenia y respuesta inmune	7
2.5 Manifestaciones clínicas y enfermedad localizada	8
2.6 Tratamiento	9
2.7 Diagnóstico diferencial	10
2.8 Agente etiológico	10
2.8.1 Taxonomía	10
2.8.2 Características del género <i>Brucella</i>	12
2.8.3 Características genéticas de <i>Brucella</i> spp.	12
2.9 Diagnóstico microbiológico	13
2.9.1 Diagnóstico indirecto	13
2.9.2 Diagnóstico directo	15
2.9.2.1 Aislamiento y cultivo	15
2.9.3 Diagnóstico molecular	16
2.9.3.1 Diagnóstico molecular a partir de muestras clínicas. Reacción en Cadena de la Polimerasa.	16
2.10 Posicionamiento estratégico de la autora sobre la temática	18
III. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1 Diseño y periodo de estudio.	19
3.2 Marco de la investigación	19
3.3 Muestras	19

3.4.1 Técnica de Brucellacapt®	22
3.4.2 PCR a punto final (PCR <i>bcsp</i>)	22
3.4.3 Sistema comercial Brucella Real-TM	23
3.5 Análisis estadístico	24
3.6 Consideraciones éticas	25
3.7 Limitaciones del estudio	25
IV. RESULTADOS	26
V. DISCUSIÓN	35
VI. DISCUSIÓN GENERAL	48
VII. CONCLUSIONES	50
VIII. RECOMENDACIONES	51
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
X. ANEXOS	
Anexo 1. Protocolo de extracción de ADN para sueros y sangre total	
Anexo 2. Diagnóstico molecular	

I. INTRODUCCIÓN

La brucelosis, también conocida como fiebre de malta o fiebre ondulante, es una de las zoonosis más importantes a nivel mundial. Por sus características invalidantes tiene graves consecuencias en la salud pública y es causa de pérdidas económicas en el sector ganadero.⁽¹⁾ La enfermedad es causada por bacterias intracelulares, inmóviles y de crecimiento lento que pertenecen al género *Brucella*, el cual agrupa 12 especies, de las cuales *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Brucella suis* y *Brucella canis*, patógenas para el hombre.⁽²⁾ Esta zoonosis, se reporta en países mediterráneos de África y Europa, el Medio Oriente, Asia Central, la India, América Central y América del Sur. En América Latina, los países con mayor prevalencia son Argentina, México y Perú.⁽³⁾

La transmisión de la infección al ser humano ocurre por contacto directo o indirecto con animales enfermos o sus productos. Las tasas de incidencia anuales internacionales superan el medio millón de nuevos casos, sin embargo, se conoce que por el subregistro existente, las cifras pueden resultar superiores. El patrón alimentario es la vía de transmisión más frecuente en la actualidad para países en desarrollo.⁽¹⁾

En los humanos la brucelosis puede ser de comienzo agudo o insidioso, con síntomas inespecíficos, en muchos casos graves debido a infección sistémica importante, de carácter debilitante de tipo crónico, que se asocia a discapacidades, en la que se afectan diferentes órganos y sistemas.⁽²⁾ No obstante, las infecciones subclínicas no diagnosticadas son frecuentes; estos pacientes suelen sufrir recidivas y complicaciones (osteoarticulares, gastrointestinales, genitourinarias, neurológicas y cardiovasculares, fundamentalmente) debido a la falta de tratamiento adecuado.⁽⁴⁾

Los pilares fundamentales para confirmar la infección por brucelas son la correcta elaboración de la historia clínico – epidemiológica y los resultados del laboratorio de microbiología. Lo anterior se basa en la amplia gama de síntomas y signos que presenta esta enfermedad, lo que la convierte en un reto para el médico de asistencia. Este hecho favorece el subdiagnóstico por lo que el número de casos activos probablemente sea entre 10 a 25 veces superior al notificado.⁽⁵⁾

Desde el punto de vista clínico-epidemiológico, la enfermedad se presenta en forma de casos aislados o de brotes epidémicos⁽⁶⁾. En los países desarrollados, estos

últimos el mayor porcentaje de transmisión de la enfermedad se produce por vía alimentaria.⁽⁷⁾

España, en particular, notifica que la mayoría de los brotes se producen en grupos familiares debido al consumo de leche o productos lácteos elaborados de forma casera, lo que justifica la evaluación de los contactos o familiares de los casos índice.⁽⁷⁾

Desde el año 1985 Cuba presenta dificultades para el desarrollo de los programas de prevención y el cumplimiento de las resoluciones para el control de la brucelosis. Como consecuencia se observa una aparente tendencia al incremento de la enfermedad en animales.⁽⁸⁾ En el año 1962 se inició por el Servicio Veterinario de Cuba una encuesta nacional de prevalencia de la Brucelosis en el país confeccionándose a finales de 1962 el primer Programa para el Control y Erradicación de la Brucelosis en los Animales Domésticos, el cual ha logrado reducir progresivamente esta enfermedad en el país. La brucelosis humana se ha notificado en todo el territorio del país, correspondiendo en ocasiones la mayor incidencia con las zonas de mayor focalidad animal. El control de esta enfermedad en el país para el humano se ha mantenido en los últimos años, regido por ciertas normas, caracterizándose esta etapa por la irregularidad en la notificación de los casos, así como falta de uniformidad en su control, lo cual no ha permitido establecer una tendencia definida de la misma.⁽⁹⁾

En el campo de salud pública la enfermedad es de declaración obligatoria y las tasas de incidencia reportadas son bajas desde el triunfo de la revolución hasta los años 80 del siglo pasado, debido al éxito de las medidas para la prevención y control de la enfermedad en los animales, lo que propició la reducción significativa de los casos en humanos. Posterior a este, con la llegada del periodo especial, se revierte la situación, especialmente por la falta de insumos para sostener la pesquisa y diagnóstico de la enfermedad en los humanos.⁽¹⁰⁾

Los métodos microbiológicos para el diagnóstico de la brucelosis incluyen la recuperación del microorganismo a través del cultivo de las muestras clínicas o la detección de su ADN mediante técnicas de biología molecular. También existen métodos indirectos que permiten demostrar la presencia de anticuerpos anti-brucelas en el hospedero.⁽⁶⁾ A pesar de que los métodos serológicos son los más utilizados en los laboratorios de diagnóstico de brucelosis humana debido a que

consumen poco tiempo y se reproducen con facilidad, el cultivo del microorganismo en sangre o tejidos se considera aun el método de referencia para el diagnóstico de esta enfermedad. No obstante, este proceder no se realiza en la mayoría de los laboratorios porque las brucelas pueden propagarse fácilmente a través de aerosoles, lo que implica que se requiera de medidas de contención biológica correspondiente a microorganismos clase III.⁽¹¹⁾

A nivel Internacional se realizan esfuerzos para desarrollar diagnósticos más específicos y sensibles que permitan detectar las brucelas o sus productos. Tal es el caso de los sistemas moleculares basados en la aplicación de variantes de PCR que permiten detectar, y en algunos casos cuantificar, el ADN de las brucelas en diferentes muestras clínicas.⁽⁷⁾ Son numerosos los estudios que demuestran que la PCR es una herramienta útil para el diagnóstico oportuno de la brucelosis aguda, la detección precoz de recidivas y el seguimiento de los pacientes luego de que culminan el tratamiento antimicrobiano.⁽¹²⁾ Los ensayos de la PCR son útiles para la identificación tanto a partir de aislados bacterianos como de muestras clínicas (suero, médula ósea, sangre total, fundamentalmente). El límite de detección oscila entre 10 y 100 fg de ADN genómico bacteriano, lo que equivale a un número de células entre 10 a 7,000 por mL de sangre.⁽⁷⁾

1.2 Justificación del estudio

En Cuba, se cuenta con una PCR a punto final que amplifica un fragmento del ácido desoxirribonucleico (ADN) de 223 pb, del gen que codifica para la proteína inmunogénica de membrana externa de 31 kDa (*BCSP31*), presente en todas las especies del género *Brucella*. Esta PCR permite la detección rápida, sensible y específica del ADN de *Brucella* spp. en sueros negativos serológicamente, de pacientes que cursan por las diferentes fases clínicas de la enfermedad. Al aplicar esta PCR se obtuvo un 85% de positividad en las muestras estudiadas serológicamente negativas, pero un 15 % de casos con clínica y epidemiología sugestivas de brucelosis escapan al diagnóstico de laboratorio, por lo que se necesita otra herramienta molecular altamente específica que pueda demostrar la presencia del ADN de *Brucella* en estas muestras clínicas.

El Laboratorio Nacional de Referencia de Leptospiras y Brucelas (LNRLB) cuenta desde el año 2020 con el sistema comercial de qPCR (Sacace Biotechnologies Srl, Italia) que permite detectar el gen *wboA* presente en algunas especies del género

Brucella, entre ellas *B. melitensis*, *B. abortus* y *B. suis*. En 2021 y 2023, se demuestra la utilidad de esta tecnología para el diagnóstico a partir de suero y sangre total de 10 pacientes adultos y 22 pediátricos sospechosos de brucelosis, respectivamente. Dichos estudios indican que las muestras con resultados negativos mediante los métodos serológicos disponibles y la PCR convencional, exhiben 60 % y 73 % de positividad, respectivamente.^(13, 14)

En nuestro contexto no aparecen reportes de la aplicación de tecnologías moleculares (PCR y sus variantes), para la confirmación de la enfermedad en brotes epidémicos. En este sentido, se presenta el siguiente estudio, a partir de muestras clínicas de individuos de la población de Esmeralda, Camagüey. En este sitio, las autoridades de salud pública y de veterinaria, detectaron un incremento considerable de casos sospechosos de brucelosis. Esmeralda es una región geográfica, donde predomina la actividad ganadera, la industria azucarera, la producción de alimentos y la explotación de minerales. Por ello, el LNR, se propone confirmar la existencia de *Brucella* spp. utilizando métodos moleculares, a partir de las muestras clínicas, de los individuos de esta localidad, asociados entre sí en tiempo y espacio.

1.3 Objetivos

1. Describir las principales variables sociodemográficas, clínicas-epidemiológicas y de laboratorio en los individuos sospechosos de brucelosis incluidos en la situación epidemiológica en estudio.
2. Confirmar el ADN de *Brucella* spp. en muestras de individuos cubanos sospechosos relacionados entre sí en tiempo y espacio, de un área con focalidad animal.

II. MARCO TEORICO

2.1 Definición y sinonimia

La brucelosis es una enfermedad zoonótica e infectocontagiosa ocasionada por las bacterias del género *Brucella*. Esta entidad nosológica sigue siendo endémica en la mayoría de los países en desarrollo y su transmisión se atribuye, fundamentalmente, al consumo de productos lácteos no pasteurizados y al contacto directo con animales enfermos, condiciones que determinan que se encuentre entre las cinco zoonosis que más afectan al ser humano. La brucelosis humana se presenta con síntomas inespecíficos, debilitantes y con elevada tendencia a evolucionar hacia la cronicidad, lo que determina que en ocasiones el diagnóstico clínico no se pueda realizar con la prontitud requerida.⁽¹⁵⁾

A lo largo del tiempo la brucelosis ha recibido diferentes nombres relacionados con sus descubridores, su presentación clínica o con la localización geográfica de los brotes epidémicos más sobresalientes. Los más conocidos son: fiebre ondulante, fiebre melitensis, fiebre de Malta, fiebre de Traum, fiebre de Chipre, enfermedad de Bang, fiebre de Gibraltar y fiebre sudoralis.⁽¹⁶⁾

2.2 Epidemiología

La brucelosis tiene una distribución mundial, pero es endémica en países del Mediterráneo (de África y Europa), del Medio Oriente, de Asia Central, de la India, de América Central y de América del Sur. En América Latina, los países con mayor prevalencia son Argentina, México y Perú.⁽¹⁷⁾

La brucelosis es reconocida como una amenaza potencial para los sectores agrícola y de salud pública en todo el mundo,⁽¹⁸⁾ sin embargo, debido al subdiagnóstico y a la subnotificación de esta enfermedad, el número real de humanos y animales que enferman cada año sigue sin estar claro. Se conoce que la cifra de los 500 000 nuevos casos anuales resulta ínfima al constatar las consecuencias de la enfermedad, ya que investigaciones recientes estiman que se encuentran en riesgo de contraerla el 57,5 % de los africanos, el 47,7 % de los asiáticos, el 24,3 % de los europeos y el 19,4 % de los americanos. (0,19 mil millones/0,98 mil millones) de personas en las Américas, y 66,7 % (28/42) de países y (0,18/0,74 mil millones) de personas en Europa estaban en riesgo.⁽¹⁹⁾ Los principales reservorios de las brucelas son los animales de granja. Entre los más

frecuentes se encuentran las ovejas, las cabras, el ganado vacuno, los cerdos, los perros, los caballos y los camellos.^(20, 21)

La infección del ser humano es un accidente en la cadena epidemiológica en el que la transmisión puede ocurrir de forma directa o indirecta. La vía directa incluye el contacto con heridas o conjuntivas humanas con órganos o secreciones del animal enfermo, la inhalación de aerosoles en ambientes contaminados, o la inoculación accidental del microorganismo. Mientras que la vía indirecta se refiere a la ingestión de productos de origen animal contaminados por brucelas. La transmisión de persona a persona es muy rara. Existen reportes de transmisión por vía sexual, a través de transfusiones de sangre, luego de trasplantes de órganos o tejidos, por vía transplacentaria, o a través de la lactancia materna.⁽²²⁾

El periodo de incubación de la brucelosis humana es variable, suele durar entre 5 y 60 días o extenderse por más tiempo. La enfermedad es más frecuente en el sexo masculino, en edades entre 30 y 40 años y en zonas rurales. Los principales grupos de riesgo son el personal de laboratorio, los veterinarios, los granjeros y carniceros, entre otros.⁽¹⁷⁾

2.3 Brotes epidémicos

En salud el término brote se refiere a la aparición repentina y significativa de casos de una enfermedad en un área geográfica específica o en una población durante un período de tiempo determinado. Estos eventos pueden ser causados por diversos factores, entre ellos predominan la introducción de un nuevo patógeno, cambios en el medio ambiente, condiciones de salud pública deficientes, o variaciones en la inmunidad de la población. En este sentido las enfermedades pueden propagarse de diferentes maneras (por contacto directo, a través del aire, por alimentos contaminados, etc.), pero para su detención es crucial implementar medidas de control, como la identificación de casos, el aislamiento de infectados, la educación de la comunidad y la intervención sanitaria para prevenir la propagación.^(22, 23)

La Organización Mundial de Sanidad Animal (OMNSA), en 2025, plantea que la brucelosis humana presenta síntomas típicos (fiebre intermitente o irregular, cefalea, debilidad, sudor abundante, escalofríos, pérdida de peso y dolor general), que persisten durante las fases iniciales de la enfermedad, aunque también puede producirse la infección de órganos como el hígado o el bazo. En particular, estos

expertos detallan que los veterinarios, granjeros y empleados de matadero están expuestos a la infección cuando manipulan animales infectados o bien fetos o placentas tras un aborto.⁽²⁴⁾

La literatura internacional exhibe artículos científicos que describen los brotes epidémicos de brucelosis humana, sobre todo en países endémicos como España y otras regiones del Mediterráneo. Dentro de las publicaciones más relevantes, se puede contar, con la realizada en la comunidad de Castilla, La Mancha y en Andalucía, Sevilla (1996), donde la brucelosis es una enfermedad tradicionalmente endémica, hecho motivado por la importancia que ha tenido el sector ganadero en su economía.^(25, 26) Por otra parte, en 2019, en Paraguay se realiza un estudio en la facultad de Veterinaria de la Universidad Nacional de Asunción (UNA) que describe y caracteriza el patrón epidemiológico de la brucelosis.⁽²⁷⁾ Del mismo modo, en Tayikistán, en 2024, se investiga sobre la existencia de un evento epidémico a partir de la observación del aumento marcado en la incidencia de brucelosis entre mayo de 2022 y del 2023.⁽²⁸⁾

Los trabajos revisados destacan la fuerte asociación entre la brucelosis humana y factores como la manipulación de material abortado, el contacto con animales enfermos, así como el consumo de leche cruda, quesos artesanales y carnes mal cocinadas.⁽²⁹⁾

2.4 Patogenia y respuesta inmune

Brucella spp. sigue un patrón en su patogenia caracterizado por la adhesión a las mucosas y su paso a través de la barrera epitelial. Su instauración a ese nivel desencadena la respuesta de monocitos, de macrófagos y células fagocíticas, en las que penetran y permanecen como parásitos intracelulares facultativos. De esa forma viajan a través del retículo endotelial hasta los nodos linfáticos locales (retrofaríngeos, inguinales, ilíacos) y afectan fundamentalmente el hígado, el bazo y la médula ósea. Luego de un periodo comprendido entre 7 - 30 días, invaden el torrente sanguíneo provocando una bacteriemia inicial.⁽³⁰⁾

Una vez dentro del torrente sanguíneo, las brucelas hacen uso de numerosos mecanismos para evitar o suprimir las respuestas bactericidas y poder sobrevivir.⁽³¹⁾ Las especies de brucelas pueden presentarse con diferente grado de virulencia, toxicidad y pirogenicidad, lo que las convierte en pobres inductores de citocinas

inflamatorias, como el factor de necrosis tumoral (TNF) y los interferones. Por otra parte, estas bacterias no activan la vía alterna del complemento y se cree que son capaces de inhibir la muerte celular programada de las células infectadas.⁽³²⁾

La susceptibilidad a la muerte intracelular difiere entre especies, por ejemplo, *B. abortus* muere fácilmente mientras que *B. melitensis* rara vez se ve afectada. El desarrollo de la inmunidad mediada por células es el principal mecanismo de recuperación. La respuesta del huésped a la infección por *B. abortus* se caracteriza por el desarrollo de granulomas tisulares indistinguibles de los de la sarcoidosis. En cambio, la infección por las especies *B. melitensis* y *B. suis* (más virulentas) suele provocar micro abscesos viscerales.⁽³²⁾

2.5 Manifestaciones clínicas y enfermedad localizada

El cuadro clínico y la gravedad de la brucelosis en los humanos dependen de la especie involucrada en la infección, la dosis infecciosa, la vía de transmisión y las características del huésped.⁽²¹⁾ Después de un período de incubación variable, la enfermedad en los humanos se manifiesta con un marcado polimorfismo sintomático, sin síntomas, signos o parámetros de laboratorio patognomónicos de esta entidad nosológica.⁽¹⁷⁾ La brucelosis humana, en dependencia del tiempo de duración del cuadro clínico que la caracteriza, puede clasificarse como una entidad clínica febril aguda (dura menos de dos meses), subaguda (dura entre dos y hasta 12 meses), o como un cuadro que persiste y progresa a la cronicidad (dura más de 12 meses).⁽³³⁾

Es importante señalar que, tras finalizar el tratamiento antimicrobiano, entre el 5 y el 40 % de los pacientes desarrollan una recaída de la enfermedad, mientras que las recidivas suelen ocurrir en los seis primeros meses que siguen al tratamiento y, con menor frecuencia, hasta 18 meses después. En individuos en continua exposición a *Brucella* spp., es difícil diferenciar una recidiva de una reinfección. ⁽³³⁾

Los síntomas y signos pueden ser generales e inespecíficos o relacionarse con la aparición de complicaciones graves. Entre los más frecuentes se encuentran la fiebre, por lo general ondulante, los escalofríos, la diaforesis, la cefalea, las mialgias, las artralgias, la lumbalgia y la pérdida de peso. También son frecuentes otros síntomas constitucionales como anorexia, astenia, fatiga, debilidad, malestar y pérdida de peso.^(33, 34)

El desarrollo de focalizaciones o complicaciones ocurre en un 30 % de los pacientes que padecen la enfermedad, y pueden presentarse en cualquier fase de la misma. La enfermedad osteoarticular es la complicación más común, siendo las sacroileítis, la espondilitis y las artritis de grandes articulaciones, las presentaciones clínicas más frecuentes. Estas son de difícil tratamiento y se asocian con incapacidad e impotencia funcional.⁽³⁵⁾

Por otra parte, entre las afecciones en el Sistema Nervioso Central (SNC) la meningoencefalitis es la complicación más frecuente, seguida de la meningitis, los abscesos cerebrales y las neuritis.⁽³⁶⁾ Entre las afecciones cardiovasculares se destaca la endocarditis que puede afectar válvulas previamente sanas y es la principal causa de mortalidad. Otras complicaciones hematológicas que pueden aparecer son la anemia, el edema pulmonar, las arritmias y la trombocitopenia.⁽³⁴⁾ Asimismo, las complicaciones genitourinarias más frecuentes son la prostatitis, la epidídimo-orquitis, la salpingitis y la vesiculitis seminal. La afectación hepática se manifiesta como una hepatitis granulomatosa difusa con un leve aumento de transaminasas. También pueden aparecer calcificaciones y abscesos en el hígado. El compromiso pulmonar es raro (menos del 5%) y los infiltrados pulmonares se asocian a derrame pleural.⁽³⁶⁾

La brucelosis infantil tiene una presentación de leve a moderada y rara vez progresa a la cronicidad. La mayoría de las revisiones pediátricas refieren una amplia gama de síntomas y signos en niños con brucelosis, siendo la fiebre y los síntomas constitucionales los más comunes. Aunque la aparición de complicaciones es rara en niños, se reportan endocarditis, miocarditis, neurobrucelosis (meningitis, encefalitis, mielitis y abscesos cerebrales uveítis, queratitis, conjuntivitis y defectos neurooftálmicos).⁽³⁷⁾

2.6 Tratamiento

La característica de las brucelas en cuanto a ser un patógeno intracelular facultativo, obliga a que se utilicen combinaciones de antimicrobianos para la tratar la infección que causa en humanos, siendo los más efectivos doxiciclina, gentamicina, estreptomicina, rifampicina y trimetoprim-sulfametoxazol.⁽³³⁾

Para la brucelosis aguda en adultos y niños mayores de 8 años, las pautas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomiendan que se utilicen en combinación doxiciclina (100 mg dos veces al día) y rifampicina (600 mg/día) durante seis semanas.⁽¹⁷⁾ En pacientes con espondilitis o sacroilitis, se recomienda doxiciclina y rifampicina combinadas con un aminoglucósido (gentamicina) durante las 2 a 3 semanas iniciales, seguidas de 6 semanas de rifampicina y doxiciclina.⁽³³⁾ En pacientes con infecciones del sistema nervioso se prefiere un régimen que incluya doxiciclina, estreptomicina y rifampicina o doxiciclina, trimetropín sulfametoxazol y rifampicina. Para los casos con endocarditis se utilizan aminoglucósidos junto con doxiciclina, rifampicina y trimetropín sulfametoxazol.⁽¹⁷⁾ El tratamiento de elección para niños menores de 8 años es la combinación de rifampicina y trimetropín sulfametoxazol. Por otra parte, el tratamiento de la brucelosis en mujeres embarazadas todavía no está bien establecido, aunque se conoce que el trimetropín sulfametoxazol ha sido eficaz en este grupo poblacional, ya sea como monoterapia o como parte de una terapia combinada con rifampicina o gentamicina.⁽³³⁾

2.7 Diagnóstico diferencial

El diagnóstico diferencial de la brucelosis en los humanos se debe realizar con otras entidades que causan síndrome febril. Entre ellas se citan la fiebre tifoidea, la leptospirosis, la malaria, el dengue, la tuberculosis, la toxoplasmosis, los linfomas y las infecciones por los virus Epstein-Barr, hepatitis y citomegalovirus. Además, algunas patologías no infecciosas pueden confundirse con un cuadro de brucelosis crónica, principalmente las hepatopatías, las osteoartropatías, las neuropatías y algunas alteraciones psiquiátricas.⁽³³⁾

2.8 Agente etiológico

2.8.1 Taxonomía

Las brucelas pertenecen al dominio Bacteria. El análisis de las secuencias del ácido ribonucleico 16S (ARNr 16S) permite ubicar a este género bacteriano dentro del grupo alfa del subgrupo dos de la clase Proteobacteria, junto a bacterias simbiotes como *Mycoplasma* y *Ochrobactrum*. Estos microorganismos se incluyen en el orden *Rhizobiales*, clase *Alphaproteobacteria*, filo *Proteobacteria*, familia *Brucellaceae*.⁽²¹⁾

La clasificación taxonómica tradicional reconoce seis especies de *brucelas* subdivididas en 15 biovariedades, que se distinguen entre sí según características fenotípicas, patogénicas y de afinidad por el hospedador. Esta clasificación incluye a *Brucella melitensis* (biovariedades 1, 2 y 3), *Brucella abortus* (biovariedades 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 9) y *Brucella suis* (biovariedades 1, 2, 3, 4 y 5). Además, contempla a *Brucella canis*, *Brucella ovis* y *Brucella neotomae*.⁽³⁷⁾ Con posterioridad, en 1994 se comienzan a aislar nuevas especies de *Brucella* a partir de mamíferos marinos. Tal es el caso de *Brucella maris* a partir de muestras de delfines, *Brucella cetaceae*, encontrada en marsopas, delfines y ballenas, y *Brucella pinnipediae* hallada en focas. En 2001, se describe *Brucella microti*, a partir del topillo campestre y el zorro rojo y *Brucella inopinata*, a partir de un implante de mama infectado en una mujer.⁽³⁸⁾ De igual modo, en 2014 se aisló *Brucella papionis* de mandriles, mientras que recientemente, se identifica a *Brucella vulpis* a partir de muestras de nódulos linfáticos de zorros rojos en Austria. En la actualidad se considera que el género *Brucella* está representado por 12 especies, las cuales, a pesar de ser en su mayoría indistinguibles morfológicamente, se diferencian en cuanto a sus características genéticas, a sus hospederos predilectos y a su potencial patogénico (ver tabla 1). La literatura internacional recoge que las especies que se consideran patógenas para el hombre son *Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis* y *Brucella canis*.⁽³⁹⁾

Tabla 1. Especies de *Brucella* spp. y sus hospedadores animales.

Especies	Hospederos animales
<i>Brucella melitensis</i>	Ovinos, caprinos y camélidos
<i>Brucella abortus</i>	Ganado
<i>Brucella suis</i>	Cerdos, liebres, renos, roedores
<i>Brucella canis</i>	Perros
<i>Brucella ovis</i>	Ovejas
<i>Brucella neotomae</i>	Roedores
<i>Brucella pinnipedialis</i>	Focas
<i>Brucella ceti</i>	Delfines, marsopas
<i>Brucella microti</i>	Campañoles
<i>Brucella inopinata</i>	No conocida, se aisló de un implante
<i>Brucella vulpis</i>	Zorro rojo
<i>Brucella papionis</i>	Babuinos

2.8.2 Características del género *Brucella*

El género *Brucella* está constituido por cocobacilos cortos y pequeños, gramnegativos, que miden de 0,5 a 0,7 μm de diámetro por 0,5 a 1,5 μm de longitud. Estas bacterias son intracelulares facultativas, inmóviles, no encapsuladas, no formadoras de esporas, de crecimiento lento y aerobias estrictas, aunque algunas cepas exigen crecer con presencia de dióxido de carbono. Estos microorganismos no fermentan los azúcares, no producen indol, no licúan la gelatina, no utilizan citratos, reducen los nitratos a nitritos y producen las enzimas catalasa y citocromo oxidasa (excepto *Brucella neotomae* y *Brucella ovis*).⁽¹⁶⁾

Las brucelas son resistentes a la congelación, al secado (liofilización) y permanecen viables durante largos periodos de tiempo en condiciones de alta humedad, baja temperatura, pH cercano a la neutralidad y poca luz solar. Sin embargo, son sensibles a la luz solar, las radiaciones ionizantes y a la mayoría de los desinfectantes comunes, con excepción de las sales cuaternarias de amonio.⁽⁴⁰⁾

2.8.3 Características genéticas de *Brucella* spp.

A pesar de las diferencias en virulencia y afinidad por el hospedador, las especies de *Brucella* tienen genomas muy similares, tanto en tamaño como en composición de bases, presentando una homología superior al 90 %, demostrada en ensayos de hibridación ADN-ADN.⁽⁴¹⁾

El genoma de la mayoría de las brucelas posee dos cromosomas circulares, uno de 2,1 Mb (cromosoma 1) y otro de 1,2 Mb (cromosoma 2). Entre ambos codifican aproximadamente 3500 genes.⁽⁴²⁾ Este contiene aproximadamente $3,2 \times 10^6$ pares de bases y un 57% de G+C, no presenta plásmidos u otros elementos genéticos móviles, aunque se ha descrito su capacidad para mantener y transferir plásmidos exógenos.⁽⁴³⁾ La ausencia de plásmidos propios en las brucelas demuestra su adaptación al ambiente intracelular (nicho ecológico estable) sin competencia microbiana, en el que no es necesaria la plasticidad genética que requeriría habitar ambientes como el intestino, con una elevada carga microbiana. Por otra parte, este fenómeno hace difícil la adquisición y transmisión de resistencia frente a los antibióticos, lo que podría explicar que

hasta el momento no se reporten cepas resistentes a los fármacos utilizados para su eliminación.⁽⁴⁴⁾

2.9 Diagnóstico microbiológico

Por las características clínicas de la brucelosis en humanos, siempre debe intentarse el diagnóstico microbiológico, ya sea mediante el aislamiento del microorganismo, la detección de su ADN, o a través de la demostración de anticuerpos específicos a títulos significativos o seroconversión. El diagnóstico microbiológico de brucelosis debe interpretarse considerando la clínica y la epidemiología del paciente. Un resultado negativo no descarta la infección, por lo que siempre se debe realizar una combinación de la mayor cantidad de métodos disponibles en los laboratorios.⁽⁴⁵⁾

2.9.1 Diagnóstico indirecto

El diagnóstico serológico de la brucelosis se basa en la confirmación del aumento de los títulos de anticuerpos específicos contra *Brucella*. Los ensayos serológicos se utilizan tanto para el diagnóstico inicial de la infección, como para el seguimiento post tratamiento. El título de anticuerpos debería disminuir después de un tratamiento eficaz, de no ser así se debe sospechar una focalización de la infección o una recaída.⁽⁴⁶⁾

Las metodologías que más se han utilizado para el diagnóstico indirecto de la brucelosis son la prueba Rosa de Bengala, la prueba de seroaglutinación estándar en tubo (SAT), la prueba de Coombs anti-brucelas y, más recientemente, los ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA) para la detección de las inmunoglobulinas M, G y A, producidas contra el LPS de estas bacterias.⁽⁴⁷⁾ Las pruebas serológicas mencionadas utilizan como antígeno células lisas de *Brucella abortus* 1119-3 y 99S, o al lipopolisacárido presente en *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* y *Brucella suis* (ELISA).⁽⁴⁸⁾

A partir de los años 2000, se comercializan diferentes sistemas en forma de estuches para el serodiagnóstico de la brucelosis, que le brindan al laboratorista bondades dirigidas a una ejecución más homogénea de los procedimientos y a la obtención de resultados con mayor calidad. Entre estos sistemas se encuentra el *Febil Antigen Brucella* (FAB) y el *Brucellacapt*.⁽⁴⁹⁾

La respuesta inmune humoral a las infecciones causadas por las especies lisas de *Brucella* (*B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*) está caracterizada por la elaboración de anticuerpos contra el LPS. La secuencia de producción de anticuerpos sigue el patrón clásico de niveles crecientes de IgM en la primera semana de infección (detectables fácilmente mediante pruebas de aglutinación como la prueba de rosa de bengala y SAT), seguidos del aumento de la IgG1 en la segunda semana y de la IgG2 e IgA con posterioridad.⁽⁴⁶⁾

La producción de los tres isotipos de inmunoglobulinas (M, G y A) continúa aumentando en las primeras fases de la enfermedad, alcanzando su punto máximo alrededor de la cuarta semana. En casos prolongados, la concentración de IgM disminuye, lo que resulta en un predominio neto de anticuerpos IgG e IgA, que pueden cuantificarse mediante un ELISA. Con el tiempo, los anticuerpos no aglutinantes (también llamados anticuerpos incompletos) se vuelven más abundantes que los aglutinantes, lo que puede dar lugar a resultados falsos negativos cuando solo se utilizan técnicas para detectar a los aglutinantes (producidos durante la primera fase de la infección). Por ello la detección de estos anticuerpos no aglutinantes requiere del uso de herramientas serológicas adicionales como la prueba de Coombs o el Brucellacapt.⁽⁵⁰⁾

La administración temprana de terapia antimicrobiana disminuye la producción de anticuerpos contra las proteínas citosólicas de *Brucella*, pero apenas afecta la respuesta anti-LPS. Cabe destacar que como la respuesta inmune individual a las brucelas en humanos es muy variable, puede ocurrir que en muchos pacientes que aparentemente se han recuperado completamente de la enfermedad, los anticuerpos IgM detectables persistan durante períodos prolongados, y que en entre el 25 % y el 50 % de estos se detecten luego de un año del tratamiento.⁽⁵⁰⁾

Por otra parte, una disminución rápida de los títulos de anticuerpos IgG e IgA generalmente indica una respuesta favorable a la terapia con antibióticos, mientras que los títulos altos persistentes o en aumento de los mismos pueden ser un signo de fracaso del tratamiento, enfermedad residual o recaída clínica inminente. De hecho, los pacientes que experimentan una recaída de la enfermedad suelen mostrar un aumento significativo en los niveles de IgG y un incremento más moderado del isotipo IgA, pero no del isotipo IgM. En general, los títulos de anticuerpos caen más lentamente en pacientes con complicaciones focales, por lo

que se debe considerar que los niveles de anticuerpos mensurables después de la terapia no necesariamente indican fracaso del tratamiento, evolución hacia la cronicidad o recaída.⁽⁵⁰⁾

2.9.2 Diagnóstico directo

2.9.2.1 Aislamiento y cultivo

El aislamiento de *Brucella* spp. Se considera la técnica de referencia o “prueba de oro” para el diagnóstico de brucelosis. El cultivo de *Brucella* es específico y permite la identificación y tipificación definitiva de los aislados de este microorganismo, lo que es muy valioso, sobre todo, en las investigaciones epidemiológicas.⁽⁵¹⁾

Por otra parte, la sensibilidad del aislamiento de *Brucella* spp. es variable, y en ocasiones baja, porque depende, entre otros aspectos, del método de cultivo que se emplee, de que la muestra sea representativa del proceso patológico, del estadio de la enfermedad (agudo o crónico) y de los antimicrobianos que haya tomado el paciente.⁽⁵¹⁾ Siendo así, mientras que durante las manifestaciones agudas entre el 50 % y el 80 % de los hemocultivos son positivos, sólo el 5 % de los casos crónicos lo son. La selección del aspirado de médula ósea como muestra a estudiar en pacientes que se sometieron a terapia con antibióticos o que están cursando por una forma crónica de la enfermedad permite obtener mejores resultados.⁽⁴⁶⁾

Es importante señalar que el riesgo de adquirir una infección de laboratorio por *Brucella* spp. oscila entre el 40% y el 100% y depende de diversos factores como son los accidentes de laboratorio y la aerosolización de microorganismos durante las actividades de identificación de los mismos.⁽⁵⁰⁾

Para el cultivo convencional de *Brucella* spp existen numerosos medios de cultivo que están disponibles en forma sólida, caldo o medio bifásico. Los medios bifásicos, como los frascos de hemocultivo de Ruiz Castañeda, el hemocultivo SEPTI-CHEK™ (BD BBL®) y el medio bifásico de rendimiento Hemoline (bioMérieux®) son los que se prefieren porque con ellos se evita el subcultivo. También están disponibles, de manera comercial, pruebas bioquímicas como API 20 NE® (bioMérieux®). Estas son particularmente útiles para una identificación rápida y sencilla del microorganismo.⁽⁴⁶⁾

Entre las técnicas automatizadas y semiautomatizadas útiles para la identificación de las brucelas mediante el monitoreo continuo de la producción de CO₂ por el microorganismo, se encuentran el BACTEC™ (Becton Dickinson Diagnostic Systems®) y el BacT/ALERT™ (bioMérieux®). El sistema BACTEC™ Myco/F-Lytic (Becton Dickinson Diagnostic Systems®) también está diseñado para mejorar la tasa de recuperación de patógenos intracelulares como *Brucella* spp. Por actividad lítica combinada y automatización. Además, recientemente, comenzó a utilizarse el sistema de biotipado semiautomático Micronaut™ (Merlin Diagnostika®) que permite la identificación de especies y biovares a través de la metabolización de diversos sustratos por estas células bacterianas.⁽⁴⁶⁾

2.9.3 Diagnóstico molecular

2.9.3.1 Diagnóstico molecular a partir de muestras clínicas. Reacción en Cadena de la Polimerasa.

Los métodos moleculares son herramientas valiosas para el diagnóstico clínico y la vigilancia en salud pública, así como para la identificación de especies y subespecies. Estas técnicas son más sensibles que los hemocultivos y más específicas que las pruebas serológicas. Las muestras clínicas útiles para ensayos moleculares son diversas, entre ellas se encuentran el suero, la sangre total, el líquido cefalorraquídeo (LCR), el líquido sinovial o pleural, la orina e incluso muestras de tejido. Sin embargo, la detección directa del ADN de *Brucella* en pacientes con sospecha de brucelosis puede ser un desafío debido a la pequeña cantidad de bacterias circulantes en la sangre, especialmente en cursos crónicos o después de una terapia con antibióticos. Además, la detección de ADN no puede demostrar una infección activa con patógenos viables y, por lo tanto, puede no respaldar de manera eficiente la toma de decisiones terapéuticas.⁽⁴⁶⁾

La PCR a punto final y PCR en tiempo real, constituyen las herramientas más ampliamente usadas para el diagnóstico molecular de la brucelosis. Estas técnicas ofrecen una alta especificidad y juegan un papel importante en el diagnóstico rápido de la infección activa para la detección del ADN de *Brucella* spp. a partir de muestras clínicas.⁽⁴⁶⁾ La PCR convencional permite obtener «*in vitro*» millones de copias de un fragmento de ADN a partir de una sola molécula. Esta herramienta se basa en la síntesis de dos nuevas hebras de ADN a partir de otra que funciona como molde. Permiten realizar un diagnóstico rápido,

sensible y específico de la enfermedad, además de ser aplicable a estudios taxonómicos y epidemiológicos. El proceso completo de una PCR convencional, incluye la extracción de los ácidos nucleicos, utilizando estuches comerciales o protocolos tradicionales, la preparación de las mezclas de reacción y la amplificación, que requiere de los ciclos con las etapas de desnaturalización, hibridación y extensión. Después de la PCR, se hace el revelado de los productos de amplificación, utilizando gel de agarosa.⁽⁵²⁾

La PCR en tiempo real o PCR cuantitativa es una variante de la PCR utilizada para amplificar y simultáneamente cuantificar de forma absoluta el producto de la amplificación de ADN. Para ello emplea, del mismo modo que la PCR convencional (o punto final), un molde de ADN, al menos un par de cebadores específicos, desoxinucleótido trifosfato (dNTP), un tampón de reacción adecuado y una ADN polimerasa termoestable; a dicha mezcla se le adiciona una sustancia marcada con un fluoróforo y se coloca en un termociclador con capacidad de hacer incidir sobre cada muestra un haz de luz de una longitud de onda determinada y de detectar la fluorescencia emitida por el fluorocromo excitado. Este termociclador es un aparato con capacidad para calentar y enfriar rápidamente las muestras, de modo que se aprovechen las cualidades fisicoquímicas de los ácidos nucleicos y las enzimáticas del ADN polimerasa.⁽⁵³⁾

El proceso de PCR en tiempo real, al igual que la PCR a punto final, por lo general consiste en una serie de cambios de temperatura que se repiten de 25-40 veces, llamados ciclos, donde cada uno posee un mínimo de tres etapas. La primera, en torno a los 95°C, permite la separación de los ácidos nucleicos de doble cadena; la segunda, a una temperatura en torno a los 50°C-60°C, facilita el alineamiento de los cebadores al ADN molde y la tercera, a 68°C-72°C, permite la polimerización por parte de la enzima ADN polimerasa. Dicha medición, se realiza luego de cada ciclo de amplificación y es por esto que también se le denomina PCR en tiempo real, es decir, PCR inmediata o simultánea.⁽⁵³⁾

Desde que en 2001 Redkar *et al.*, publican el primer ensayo basado en la técnica de PCR en tiempo real para la detección de ADN de *Brucella melitensis*, *Brucella abortus* y *Brucella suis* se han sucedido varios ensayos que permiten la detección y/o cuantificación de ADN de *Brucella* spp.⁽⁴⁴⁾ Los principales genes dianas para la detección de brucelosis mediante la PCR incluyen aquellos que

están en las proteínas de la membrana externa, la secuencia 16S del ARNr, las regiones espaciadoras 16S y 23S, los genes de mantenimiento, los genes de utilización de eritritol y las secuencias de inserción. Mediante las variantes de PCR, se han identificados estos genes a partir tanto de aislados como de muestras clínicas. La PCR muestra en estos ensayos un límite de detección que oscila desde un 10 y hasta 100 fg del ADN genómico bacteriano, lo que equivale a la detección de 10 a 7 000 células de brucelas por mililitro de sangre total o leche.⁽⁵⁰⁾

2.10 Posicionamiento estratégico de la autora sobre la temática

A juicio de la autora, las referencias bibliográficas que se consultan sobre la temática de brotes epidémicos de brucelosis humana, resultan útiles para confeccionar la tesis, con énfasis en la sección de su clínica, epidemiología y diagnóstico de laboratorio. La bibliografía del documento, está hilvanada a través de todo el tiempo y denota que estos eventos son frecuentes que ocurran, cuando las medidas para su prevención y control fallan. Muchos autores, toman en consideración las descripciones de otros y sobre estos preceptos asienten sus nuevas investigaciones. Sin embargo, cuando se busca información científica y técnica sobre el estudio de los individuos relacionados en tiempo y espacio, con un foco animal por brucelosis, en contraste, tanto en Cuba como a nivel mundial, los trabajos publicados no son sistemáticos, ni abundantes. No obstante, se constata que existe un consenso, entre la mayoría de los autores revisados, en cuanto a la descripción de las variables en estudio, que caracterizan un brote y donde con frecuencia provocan la enfermedad de los incluidos en este. De igual manera, coincidimos que los avances sobre la implementación del diagnóstico molecular de laboratorio, se ha fortalecido no solo para la vigilancia de la enfermedad, sino también para el estudio de eventos epidémicos, donde se describen los principales factores de riesgo asociados a la adquisición de la infección, como componente epidemiológico elemental. Por las razones expuestas, la autora, decide sustentar el diseño y análisis de los resultados de la presente investigación, con las publicaciones que abordan la confirmación molecular de individuos sospechosos asociados a un brote epidémico de una población camagüeyana cubana.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Diseño y periodo de estudio.

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal retrospectivo, en el periodo comprendido entre diciembre 2024 y febrero de 2025.

3.2 Marco de la investigación

Las investigaciones se efectuaron en el LNRLB del Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri. Este laboratorio es el responsable de la vigilancia, referencia y diagnóstico microbiológico especializado de la brucelosis en Cuba. Además, posee el equipamiento tecnológico necesario para brindar estos servicios y enfrentar contingencias relacionadas con esta enfermedad infectocontagiosa.

3.3 Muestras

El estudio estuvo integrado por 49 individuos sospechosos de brucelosis, relacionados entre sí en tiempo y espacio, procedentes del municipio Esmeralda, de la provincia de Camagüey, de los cuales se recibieron 76 muestras de suero, durante el periodo declarado. Dentro de este universo se seleccionó una submuestra integrada por 36 individuos, que además de cumplir con el criterio de inclusión mencionado, contaban con la información de fecha de inicio de síntomas (FIS) y fecha de toma de muestra (FTM).

Para dar salida al objetivo 1, se recopilaron los datos de los individuos sospechosos de la zona camagüeyana, y se revisó la información contenida en las solicitudes de diagnóstico o en los modelos para la recolección de información, disponibles en el LNR-LB (ver tabla 2).

Tabla 2. Operacionalización de las variables en estudio de los 49 individuos sospechosos de brucelosis de un área de focalidad animal.

Variable	Clasificación	Categoría de la escala	Definición de las categorías de la escala
Rango de edades	Cuantitativa ordinal	0-14 15-24 25-34 35-44 45-54 55-64 >65	Se consideró la edad en años cumplidos.
Sexo	Cualitativa nominal dicotómica	Masculino Femenino	Según sexo biológico
Color de la Piel	Cualitativa nominal politómica	Mestiza Negra Blanca	Según color de la piel
Nivel de Escolaridad	Cualitativa nominal politómica	Primaria Secundaria básica Pre universitario Técnico Medio Universitario	Según el nivel de escolaridad
Labor que realiza	Cualitativa nominal politómica	-Sin riesgo epidemiológico (campesino, trabajador por cuenta propia, ganadero, gastronómico, veterinario, trabajador de servicios pecuarios, matarife, especialista en alimentos) -Con riesgo epidemiológico (estudiantes, ama de casa, ingeniero, contador, custodio, desocupado, jubilado, administrador, albañil, económico, maestro, mecánico, médico, panadero, promotora cultural, musicólogo)	Según la labor que desempeñe el individuo
Fuente probable de infección	Cualitativa nominal politómica	Contacto con animales Ingestión de leche Ingestión de queso Consumo de carnes crudas Ingestión de productos lácteos	Según fuente de infección
Contacto con animales	Cualitativa nominal politómica	Aves Bovinos Caninos	Se considerará cómo contacto directo el vínculo laboral o afectivo

		Porcinos Equinos Felinos	con los animales mencionados.
Contacto o consumo de alimentos	Cualitativa nominal dicotómica	Carnes Leche Quesos	En dependencia de la existencia o no de consumo de alguno o de todos los alimentos mencionados.
Síntomas clínicos	Cualitativa nominal politómica	Fiebre Sudoración profusa Cefalea Dolores musculares Dolores articulares Debilidad Otros síntomas	Se tomarán en consideración él o los síntomas presentes en el paciente
Tratamiento	Cualitativa nominal politómica	Doxiciclina Rifampicina Penicilina Amoxicilina Sulfaprin Vancomicina Clindamicina No refiere	Según revisión de historias clínicas
Intervalo entre el FIS-FTM	Cualitativa nominal politómica	Infección aguda (0-3 meses) Infección subaguda (3 meses- 12 meses) Infección crónica (+ de 12 meses)	Según el tiempo de evolución clínica del paciente (FIS) con relación a la fecha de toma de muestra (FTM)
Resultado por Brucellacapt	Cualitativa nominal politómica	40 80 160 2560 NR	Según revisión del registro primario del LNR-IPK
Resultado por PCR a punto final	Cualitativa nominal dicotómica	Se detecta AND de <i>Brucella</i> spp. No se detecta AND de <i>Brucella</i> spp.	Según revisión del registro primario del LNR-IPK
Resultado por PCR a tiempo real	Cualitativa nominal dicotómica	Se detecta AND de <i>Brucella</i> spp. No se detecta AND de <i>Brucella</i> spp.	Según revisión del registro primario del LNR-IPK

Para dar cumplimiento al objetivo 2 se siguieron las siguientes técnicas y procedimientos.

3.4. Procedimientos

3.4.1 Técnica de Brucellacapt®

Brevemente, para realizar la técnica, se realizan las diluciones desde 1/40, 1/80, 1/160 de 1/640. Para preparar las diluciones se tomó una placa de microtitulación de 96 pocillos de fondo U. En el primer pocillo se colocaron 100 µl del diluyente y a partir del segundo y hasta el último pocillo, se instilaron 50 µl del diluyente. Posteriormente, fueron añadidos 5 µl del suero problema al primer pocillo y se realizaron diluciones seriadas al doble, para, por último, añadir 50 µl de la suspensión bacteriana en todos los pocillos. La incubación se realizó en cámara húmeda y oscura, a 37°C durante toda la noche.

Los resultados fueron interpretados de la siguiente manera:

Muestra positiva: máxima dilución donde se observó una aglutinación (malla de aglutinación) que ocupó la mayor parte del pocillo.

Muestra negativa: cuando se observó un botón de aglutinación en el centro del pocillo.

Título con valor diagnóstico: superior a la dilución 1/320 (título sugerente de brucelosis).⁽⁵⁴⁾

3.4.2 PCR a punto final (PCR *bcsp*)

Con la PCR *bcsp* se amplificó un fragmento de 223 pb del gen que codifica para la proteína inmunogénica de la membrana externa de 31 kDa BCSP (del inglés: *Brucella Cell Surface Salt-Extractable Protein*), la cual se encuentra conservada en todas las especies y biovariedades del género *Brucella*.^(11,12)

Extracción de ADN: El ADN de los sueros se extrajo siguiendo las instrucciones del estuche comercial QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Alemania).⁽⁵⁵⁾ La concentración y calidad del ADN se verificó por espectrofotometría (BioPhotometer plus (Eppendorf, Alemania). Ver anexo 1.

Cebadores: se utilizaron los cebadores cuyas secuencias son: B₄: 5'-TGG CTC GGT TGC CAA TAT CAA-3' y B₅: 5'-CGC GCT TGC CTT TCA GGT CTG-3'. Los mismos fueron sintetizados en el CIGB.⁽¹²⁾

Mezcla de reacción: se preparó para un volumen final de 25 µL. Sus componentes fueron 2,5 µL de tampón PCR 10X; 0,5 µL de deoxinucleótidos-trifosfato a 10 mM; 2,5 µL de colorante 10X; 1,25 µL de cada cebador (10 µM); 0,125 µL de la enzima *Taq* polimerasa (5 U/ µL) (QIAGEN, Alemania); volumen suficiente de H₂O ultrapura estéril y 5 µL de la muestra de ADN.

Programa de amplificación: contó con un ciclo de desnaturalización inicial a 93 °C por cinco minutos, seguido de 40 ciclos de desnaturalización a 90 °C por un minuto, hibridación a temperatura de 60 °C por un minuto y extensión a 72 °C por un minuto; con una extensión final a 72 °C durante diez minutos. En cada ensayo se utilizó como control negativo agua ultra pura estéril y como positivo extracto de ADN de *B. abortus* ATCC 1119-3.

Análisis de los productos amplificados: los productos de ADN fueron analizados en geles de agarosa al 2 %, con bromuro de etidio como agente intercalante, utilizando como tampón de corrida TBE al 1X. Se empleó una cámara electroforética OA 110 (ElettrofoR, Italia) acoplada a la fuente de electroforesis EFD 300 (ElettrofoR, Italia), ajustada a una diferencia de potencial de 100 V durante 60 minutos. Los amplicones se visualizaron en un fotodocumentador UVP Transilluminator (analytikjena, USA), usando como patrón de peso molecular la escala de 100 pb (Promega, USA). Se consideró positivo cuando se observó el patrón de fragmento de talla de 223 pb. Ver anexo 2.

3.4.3 Sistema comercial Brucella Real-TM

Extracción de ADN: La extracción de ADN de las muestras clínicas se realizó mediante el estuche comercial QIAamp Mini Kit (QIAGEN, Alemania).

Aplicación del sistema comercial Brucella Real-TM: La qPCR para la detección del gen *wboA*, presente en las especies *Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, *Brucella ovis* y *Brucella canis*, se realizó según las instrucciones del fabricante (Sacase, Ref B10-50FRT).

Programa de amplificación

La amplificación del ADN se realizó en un Rotor-GeneTM3000/6000/Q (Corbett Research, Qiagen, Alemania), y el programa constó de tres etapas. La primera de ellas con un ciclo de calentamiento a 95°C por cinco minutos, seguida de una

segunda etapa al realizar 10 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 10 segundos, una hibridación a 65 °C por 25 segundos y una extensión a 72 °C por 10 segundos. La tercera y última etapa consistió en hacer 35 ciclos de desnaturalización a 95 °C por 10 segundos, una hibridación a 56 °C por 25 segundos (en esta se detectará la señal fluorescente) y una extensión a 72 °C por 10 segundos.

Análisis e interpretación de los resultados

Los resultados se interpretaron mediante el paquete informático versión 2.3.1.49 del Rotor-GeneTM3000/6000/Q.

La detección de fluorescencia se realizó en diferentes canales: el FAM (verde) para el CI y el JOE (amarillo) para las especies de *Brucella* según el siguiente cuadro:

Valores de referencia del valor de corte (Ct, de sus siglas en inglés) para la interpretación de los resultados en los controles y las muestras clínicas:

	Ct canal Fam (Verde)	Ct canal Joe (Amarillo)	Interpretación
CN	No Ct	No Ct	Negativo
CP	No Ct	Positivo (<33)	Positivo
<i>B. abortus</i> S19	No Ct	Positivo (<33)	Positivo
	Positivo (<31)	Positivo (<33)	Positivo
Muestras clínicas	Positivo (<31)	No Ct	Negativo
	No Ct	Positivo (<33)	Inhibido

ADN detectable: Ct $\geq$ 33. Definido en la cuadrícula de resultados en el Canal JOE (amarillo) / HEX / Cy3.

ADN no detectable: Ct es $\leq$ 31. No definido en la cuadrícula de resultados en el JOE (amarillo) / HEX / Cy3 (la curva de fluorescencia no cruza la línea de umbral).

Resultado no válido: Ct en el rango de 31 a 33. Cuadrícula de resultados (la curva de fluorescencia no cruza la línea de umbral) en el canal FAM / Green. En este supuesto, la qPCR debe repetirse a partir de la extracción de ADN.

3.5 Análisis estadístico

La información de la investigación se introdujo en bases de datos diseñadas al efecto empleando el programa Excel (Microsoft Office). Para el análisis de la información se utilizó el paquete estadístico EPIDAT 3.1.

El procesamiento de los datos se llevó mediante medidas de estadística descriptiva como frecuencias absolutas y porcentajes.

3.6 Consideraciones éticas

Durante la realización de la investigación se respetaron estrictamente las siguientes cuestiones éticas. Se cumplieron las medidas de bioseguridad establecidas para el trabajo y manipulación de microorganismos y muestras según los niveles de riesgo establecidos por la Comisión Nacional de Seguridad Biológica en la Resolución 38/2006.

Todas las etapas de la investigación, estuvieron comprendidas en un Proyecto Sectorial aprobado cuyo título es: "Zoonosis de importancia médica: el desafío de conocerlas y prevenirlas, con enfoque de una salud. (2025-2027)", con código PS241LH005-050. De igual manera el protocolo de tesis fue previamente aprobado por la CCEM con código CC-BM 2025-01 y el Comité de Ética del IPK con código CEI-IPK 20-25.

La información se conservó con carácter confidencial. No se reveló la identidad de los individuos a los que se les estudiaron sus muestras clínicas. Los resultados de las pruebas de laboratorio fueron enviados, por las vías establecidas del MINSAP e IPK, y se utilizaron solo con fines científicos por el equipo de investigación.

Toda la información relacionada con esta investigación se almacenó en formato electrónico, y se protegió en salvas en el LNRLB-IPK. La información, estuvo disponible para los investigadores que participaron en el estudio. Los resultados obtenidos fueron presentados en eventos científicos o publicados en revistas nacionales o internacionales; y en cuyas autorías se colegió el nivel de participación de los diferentes especialistas implicados. De igual manera, durante la investigación, éstos contribuyeron al fortalecimiento de la vigilancia de la brucelosis humana en Cuba, y al Programa de Zoonosis Cubano.

3.7 Limitaciones del estudio

La presente investigación estuvo limitada por la incompleta información clínica – epidemiológica que acompañaba a las muestras procedentes de los individuos relacionados a la zona de focalidad animal, de Esmeralda. Además, no se dispuso de las dos muestras de sueros de todos los casos de estudio.

IV. RESULTADOS

La distribución, según sexo, de los 49 individuos sospechosos de brucelosis procedentes del área de focalidad animal en estudio (gráfico 1), mostró que el 76 % (37/49) de ellos pertenecía al sexo masculino predominando sobre el sexo femenino [24% (12/49)].

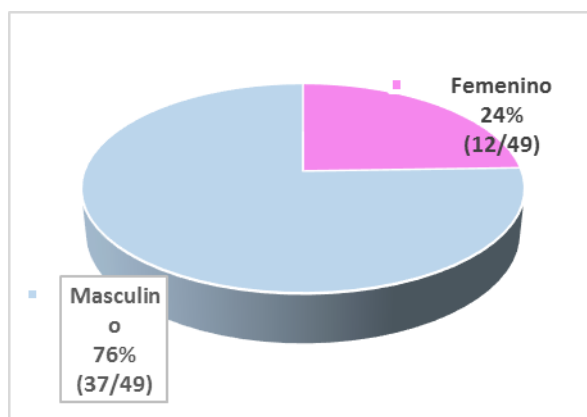


Gráfico 1. Distribución de los 49 individuos sospechosos de brucelosis, de un área de focalidad animal, según sexo. IPK, 2025.

En la tabla 3 se evidencia que el grupo de edades que predominó en los 49 individuos sospechosos de brucelosis de un área de focalidad animal, fue el correspondiente al rango entre 45 y 54 años para un 34,7 % (17/49), siguiéndole en orden de frecuencia el de 15 a 24 años con un 14,3 % (7/49) y los de 25 a 34 y 35 a 44 con igual porcentaje de 12,2 % (6/49). Resultó interesante el hallazgo que, en las edades extremas de la vida, se encontraron porcentajes de 10,2 % (5/49) y 6,2 % (3/49), respectivamente.

Tabla 3. Resultados de los 49 individuos sospechosos de brucelosis, de un área de focalidad animal, según grupos de edades. IPK, 2025

Grupo de edades	Total individuos	Porcentaje
0-14	5	10,2
15-24	7	14,3
25-34	6	12,2
35-44	6	12,2
45-54	17	34,7
55-64	5	10,2
>65	3	6,2
Total	49	100

El 91,8 % (45/49) de los individuos resultaron tener la piel blanca, mientras que el 4,1 % (2/49) tuvo la piel mestiza y negra, respectivamente. Ver tabla 4.

Tabla 4. Resultados de los 49 individuos sospechosos de brucelosis, de un área de focalidad animal, según color de la piel. IPK, 2025.

Color de la piel	Total individuos	Porcentaje
Mestiza	2	4,1
Negra	2	4,1
Blanca	45	91,8

La tabla 5 evidencia que el 40,8 % (20/49) de los sospechosos del área en estudio, tenían un nivel de escolaridad de secundaria básica. De forma decreciente, le continúan el nivel preuniversitario [22,4 % (11/49)] y universitario [16,4 % (8/49)]. En últimos escaños aparecieron los niveles de primaria [14,3 % (7/49)] y técnico medio [6,1 % (3/49)].

Tabla 5. Resultados de los 49 individuos sospechosos de brucelosis, de un área de focalidad animal, según nivel de escolaridad. IPK, 2025.

Nivel de escolaridad	Total individuos	Porcentaje
Primaria	7	14,3
Secundaria básica	20	40,8
Pre universitario	11	22,4
Técnico Medio	3	6,1
Universitario	8	16,4

En cuanto a la ocupación, la tabla 6 muestra que el 14,3 % (7/49) de los individuos asociados al evento epidemiológico eran campesinos. Estos se siguieron de los estudiantes [12,2 % (6/49)], las amas de casa [8,2 % (4/49)], así como de los ingenieros y los trabajadores por cuenta propia [6,2 % (3/49)], con igual frecuencia. El 52,7 % restante se distribuyó en otras ocupaciones con menor porcentaje de aparición (contador, custodio, desocupado, ganadero, gastronómico, jubilado, veterinario, administrador, albañil, asesor de servicios pecuarios, económico, especialista en alimentos, maestro, matarife, mecánico, médico, panadero, promotora cultural, musicólogo).

Tabla 6. Resultados de los 49 individuos sospechosos de brucelosis, de un área de focalidad animal, según ocupación laboral. IPK, 2025.

	No.	%	Ocupación	No.	%
Con riesgo epidemiológico	19	38,7	Campesino	7	14,3
			Trabajador por cuenta propia	3	6,2
			Ganadero	2	4,1
			Gastronómico	2	4,1
			Veterinario	2	4,1
			Asesor de servicios pecuarios	1	2
			Matarife	1	2
			Especialista en Alimentos	1	2
Sin riesgo epidemiológico	30	61,2	Estudiantes	6	12,2
			Ama de casa	4	8,2
			Ingeniero	3	6,2
			Contador	2	4,1
			Custodio	2	4,1
			Desocupado	2	4,1
			Jubilado	2	4,1
			Administrador	1	2
			Albañil	1	2
			Económico	1	2
			Maestro	1	2
			Mecánico	1	2
			Médico	1	2
			Panadero	1	2
			Promotora Cultural	1	2
			Musicólogo	1	2

De los 49 individuos sospechosos de brucelosis del área de focalidad animal en estudio el 63,3 % (31/49) refirió ingerir productos lácteos, seguidos por aquellos que consumieron carnes crudas [24,5 % (12/49)], y por los que tuvieron contactos con animales [12,2 % (6/49)]. Ver tabla 7.

Tabla 7. Resultados de los 49 individuos sospechosos de brucelosis, de un área de focalidad animal, según fuente de infección. IPK, 2025.

Fuente de Infección	Total individuos	Porcentaje
Contacto con animales	12	24,5
Consumo de carnes crudas	6	12,2
Ingestión de productos lácteos (leche, queso, yogurt y otros)	31	63,3

Por otra parte, en la tabla 8 se desglosaron los resultados referentes a las especies de animales con las cuales los individuos sospechosos tuvieron contacto estrecho. Obsérvese un predominio en las personas que se relacionaron con los bovinos [51 % (25/49)], siguiéndole en orden aquellos que tuvieron contacto con los caninos [38,8 % (19/49)], y los porcinos [30,6 % (15/49)]. Un menor porcentaje se relacionó con aves, equinos y felinos con un 6,1 % (3/49), respectivamente. Debe tomarse en consideración que para el análisis de esta información se tuvo presente que un individuo pudo haber tenido contacto con varias especies de animales indistintamente.

Tabla 8. Resultados de los 49 individuos sospechosos de brucelosis, de un área de focalidad animal, según contacto con animales. IPK, 2025.

Contacto con animales	Total individuos	Porcentaje
Aves	3	6,1
Bovinos	25	51
Caninos	19	38,8
Porcinos	15	30,6
Equinos	3	6,1
Felinos	3	6,1

Dentro de los síntomas y signos prevalecientes en la data de estudio predominaron la fiebre [59,1 % (29/49)], las mialgias [55,1 % (27/49)], la hepatomegalia [42,8 % (21/49)], el malestar general [38,7 % (19/49)] y las artralgias [38,7 % (19/49)], en orden decreciente. No obstante, también fueron recogidos otros como la cefalea, los escalofríos, la pérdida de peso, las adenopatías, los vómitos, las diarreas y la sudoración con porcentajes de aparición entre el 30,6 y el 4 % (ver gráfico 2).

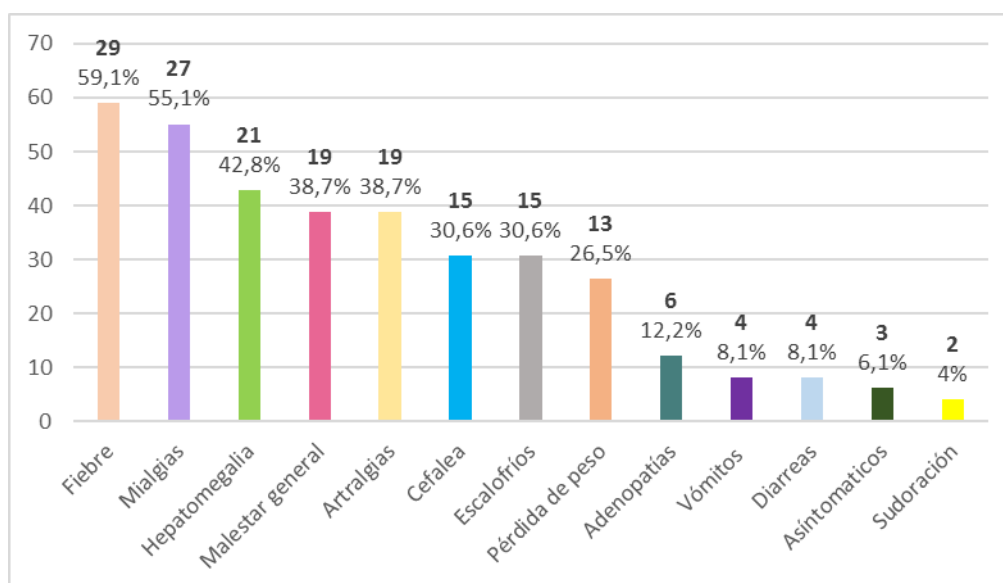


Gráfico 2. Distribución de los 49 individuos sospechosos de brucelosis, de un área de focalidad animal, según síntomas y signos. IPK, 2025.

El uso de los antimicrobianos en los casos en estudio se recoge en el gráfico 3. Nótese que predominó la utilización de la doxiciclina [73,5 % (36/49)], seguido de la rifampicina [53,1 % (26/49)] y las penicilinas [10,72 % (5/49)], mientras que con similares cifras [2,1 % (1/49)] aparecieron trimetropím-sulfametoxazol, la vancomicina y la clindamicina. Solo un individuo (2,1%) no refirió el uso de medicamentos.

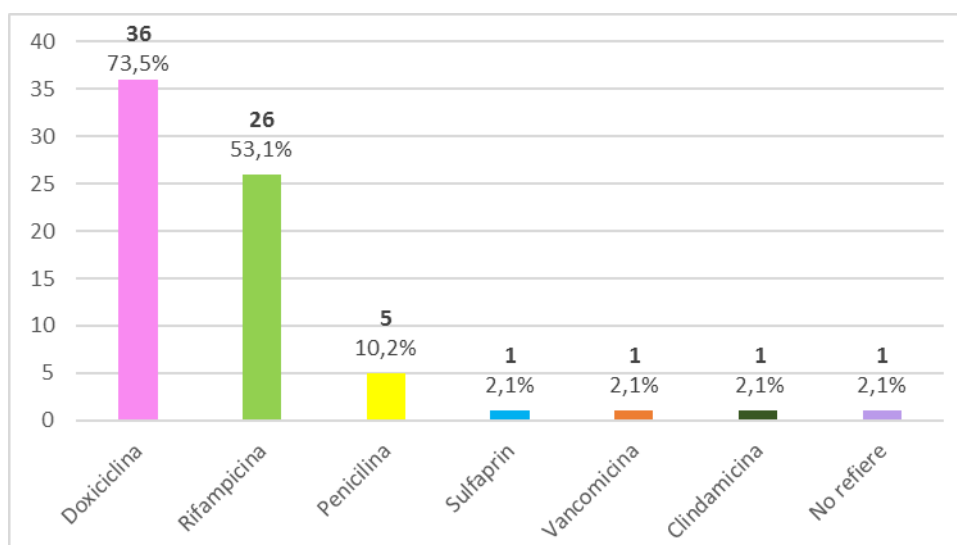


Gráfico 3. Distribución de los 49 individuos sospechosos de brucelosis, de un área de focalidad animal, según tratamiento con antimicrobianos. IPK, 2025.

La positividad molecular de los casos sospechosos del evento epidémico se muestra en el gráfico 4. En el 93,9 % (46/49) de los pacientes se detectó el ADN de *Brucella* spp., restando un 6,1 % (3/49) de los individuos.

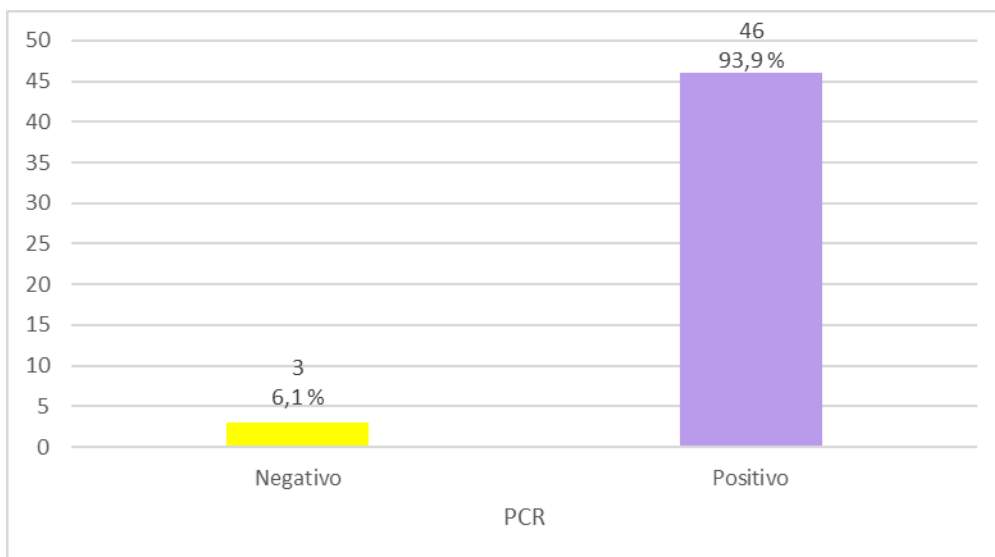


Gráfico 4. Distribución de los 49 individuos sospechosos de brucelosis, de un área de focalidad animal, según resultados de PCR a punto final. IPK, 2025.

En la presente investigación se incluyeron los resultados de la técnica serológica Brucellacapt considerando su utilidad en la detección de anticuerpos totales contra *Brucella* spp. en los casos positivos molecularmente. Se observó un 19,6 % (9/46) de positividad serológica. Como muestra el gráfico 5, el 80,5 % de los enfermos no mostró reactividad serológica por la técnica usada, mientras que un 15,2 % (7/46) exhibió titulaciones de 40, solo un caso tuvo títulos de 80 (1/46) y un último de 2560 (1/46).

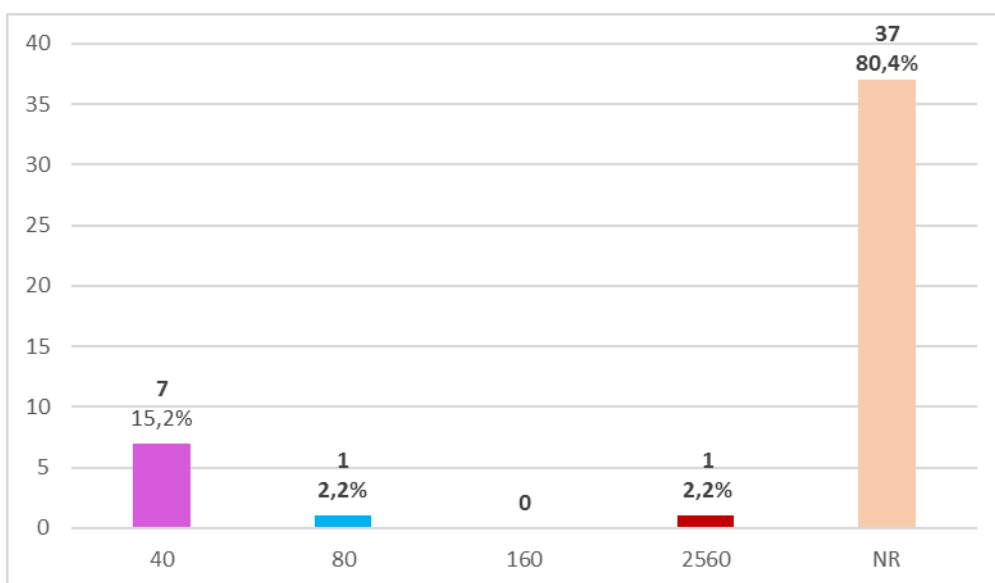


Gráfico 5. Distribución de los 46 individuos sospechosos molecularmente positivos a brucelosis, según títulos obtenidos por la técnica de Brucellacapt. IPK, 2025.

De igual manera y con la intención de relacionar los resultados de laboratorio con las variables de FIS y FTM, se realiza en la tabla 9, donde se relacionan la distribución en 36 individuos sospechosos de brucelosis del área de focalidad animal, con las fases clínicas de la enfermedad. De los 36 individuos, 29 (80,5 %) se encontraban en la fase aguda de la enfermedad, siete (17,9 %) en la subaguda y ninguno en la crónica. Puntualmente, en cuanto a los resultados serológicos entre los que cursaban por la fase aguda, 23 (79,3 %) no respondieron serológicamente, cinco (17,2 %) quedaron en la categoría de sospechosos y uno (3,4 %) en la de positivo, mientras que ninguno de los siete pacientes que cursaron por la fase subaguda mostro reactividad serológica. Por último, entre los 29 individuos en fase aguda, 26 (89,6 %) resultaron positivos molecularmente y en tres (10,3 %) no se pudo detectar el ADN de *Brucella* spp. De igual manera, los siete individuos (100 %) que cursaban la fase subaguda resultaron positivos molecularmente.

Tabla 9. Resultados serológicos – moleculares en 36 individuos sospechosos de brucelosis del área de focalidad animal, según información de fecha de inicio de síntomas con respecto a la fecha de toma de muestra y su relación con las fases clínicas de la enfermedad.

Diagnóstico (N= 36 individuos)		Fase aguda N= 29 (%)	Fase subaguda N= 7 (%)	Fase crónica N= 0
Serológico (Brucella pt)	No reactivo	23 (79,3%)	7 (100%)	-
	Sospechoso (40, 80, 160)	5 (17,2%)	-	-
	Positivo (≥ 320)	1 (3,4%)	-	-
	Total	29	7	0
Molecular (PCR)	Detectable ADN	26 (89,6%)	7 (100%)	-
	No detectable ADN	3 (10,3%)	-	-
	Total	29	7	0



V. DISCUSIÓN

La brucelosis es una enfermedad zoonótica causada por bacterias del género *Brucella*, que puede generar brotes epidémicos en comunidades rurales y urbanas. Sus características fundamentales incluyen alta transmisibilidad desde animales a humanos, síntomas inespecíficos que dificultan el diagnóstico, y un fuerte impacto en salud pública y en la economía agropecuaria.⁽²¹⁾

Un brote epidémico se considera luego de la aparición repentina y localizada de casos de una misma enfermedad por encima de lo esperado en una población y tiempo concretos. Este término se utiliza para describir eventos que suelen limitarse a una comunidad, institución o área geográfica pequeña y se investiga para confirmar diagnóstico, magnitud y causa.⁽²¹⁾

Para dar respuesta al enfrentamiento de un brote epidémico se establecen fases escalonadas que al concatenarse logran contener epidemiológicamente la situación provocada. Dentro de estas fases de investigación se destacan la verificación del diagnóstico a través de la confirmación de los casos de una misma enfermedad; la correcta definición de caso sustentada en su búsqueda activa mediante el establecimiento de criterios (confirmado, probable, sospechoso) y la localización de un mayor número de casos; la identificación de los patrones de transmisión; así como la formulación de hipótesis, diseños de investigación adecuados e implementación de intervenciones inmediatas (aislamiento, retiro de alimentos, desinfección, vacunación si procede) y la comunicación de los riesgos epidemiológicos existentes.⁽²¹⁾

La literatura internacional exhibe artículos científicos que describen los brotes epidémicos de brucelosis humana, sobre todo en países endémicos como España y otras regiones del Mediterráneo. Dentro de las publicaciones más relevantes, se puede contar, con la realizada en la comunidad de Castilla, La Mancha, donde la brucelosis es una enfermedad tradicionalmente endémica, hecho motivado por la importancia que ha tenido el sector ganadero en su economía. En esta población existe la costumbre arraigada de consumir productos lácteos y sobre todo queso fresco sin pasteurizar, lo cual origina de forma frecuente brotes epidémicos.⁽²⁵⁾ Otro estudio realizado en España, en 1996, en Andalucía, Sevilla, registra una serie de casos de Brucelosis, en jóvenes varones residentes en distintos municipios de esta localidad, los cuales tenían como elemento en común ser trabajadores de un matadero situado en una localidad próxima a dicha ciudad.⁽²⁶⁾

Por otra parte, en 2019, en Paraguay se realiza un estudio en la facultad de Veterinaria de la Universidad Nacional de Asunción (UNA) que describe y caracteriza el patrón epidemiológico de la brucelosis, las condiciones laborales de los trabajadores y de práctica de los estudiantes, el uso de equipo de protección personal durante el contacto con los animales y las manifestaciones clínicas o complicaciones más frecuentes de los pacientes con antecedentes epidemiológicos de haber tenido contacto con las cabras, en un brote epidémico ocurrido en esa localidad.⁽²⁷⁾ Del mismo modo, en Tayikistán, en 2024, se motiva que se investigue sobre la existencia o no de un evento epidémico a partir de la observación del aumento marcado en la incidencia de brucelosis entre mayo de 2022 y del 2023 en el noroeste de esta región (1,0/100.000 personas a 32,7/100.000).⁽²⁸⁾

La mayoría de los mecanismos de transmisión de las brucelas hacia los humanos son bien conocidos, y a pesar de tener la enfermedad un cuadro clínico impreciso e insidioso, a nivel mundial, su trascendencia es menor al 2%. En México, en los últimos años, la brucelosis presenta un comportamiento epidemiológico con tendencia al descenso significativo; siendo la tasa más alta en 1995 (6,4 por 100,000 habitantes) en comparación con la del 2015, que alcanza un 2,4 por 100,000 habitantes, aunque, en el periodo de 2009 a 2015 la tendencia de casos se incrementa ligeramente.⁽⁵⁶⁾

En México, en el año 2016, con el objeto de conocer el comportamiento epidemiológico de la brucelosis humana se realiza un análisis utilizando como bases de datos los Anuarios de la Morbilidad de la Dirección de Epidemiología. Diferentes publicaciones mencionan al sexo masculino como el que más se afecta. Aunque en otros estudios y en menor cuantía, las mayores tasas de incidencia de brucelosis que se reportan, por ejemplo, en el periodo 2009-2015, son del sexo femenino, seguramente porque las mujeres se involucran más con la producción de los derivados lácteos (leche contaminada, el queso y la crema); el grupo de edades prevaeciente en estos estudios, es el de 45 a 49 años con un rango en la incidencia de 3,01 a 6,29 por 100,000 en mujeres, el incremento en la tasa se aprecia con mayor claridad entre los 20 y 59 años. En los hombres se observan incrementos en las tasas desde los 10 y más años; el grupo que más se afecta, es el de 50 a 59 años, con un rango en la tasa de incidencia de 2,08 a 3,00 por 100,000 hombres. La

razón mujer-hombre que se encuentra en los diferentes años es de 1:0,6, en todo el período a excepción del año 2011 que es de 1:0,5.⁽⁵⁶⁾

En el año 2019, en Paraguay se realiza un estudio centrado por la facultad de Veterinaria de la Universidad Nacional de Asunción, con la finalidad de caracterizar el patrón epidemiológico de brucelosis a partir de un brote epidémico ocurrido en esa localidad. En esta investigación de 100 pacientes objeto de estudio, 51 son mujeres y 49 hombres.⁽²⁷⁾

Del mismo modo, en Tayikistán, en 2024, debido a un marcado aumento en la incidencia de brucelosis en el noroeste de esta región (de 1,0/100.000 personas entre enero y mayo de 2022 a 32,7/100,000 entre enero y mayo de 2023), se decide estudiar la existencia de un evento epidémico en una aldea montañosa. En este trabajo, se estudian 57 individuos, de los cuales el 44% son hombres.⁽²⁸⁾

De igual manera, en 2024,⁽⁵⁷⁾ se publica un meta análisis que se centra en la realización de una revisión sistemática de la brucelosis en países del Medio Oriente, región donde la enfermedad sigue siendo un importante problema de salud pública. En este sentido se analizan 92 investigaciones entre 1993 y 2024, y se describe la tasa de prevalencia, los factores de riesgo, así como los métodos de diagnóstico que se emplean para la confirmación de la enfermedad en humanos. Del análisis de género se indica una tasa de prevalencia de 18,02 % (IC del 95 %: 11,55–25,51 %) en hombres y 13,61 % (IC del 95 %: 10,8–16,68 %) en mujeres, sin diferencia significativa en las tasas de hospitalización.⁽⁵⁷⁾

En la región de Etiopía,⁽⁵⁸⁾ los hombres tienen un mayor riesgo de contraer brucelosis debido a su participación en el manejo del ganado y el consumo de productos animales crudos, particularmente en áreas pastorales, según Igawe *et al.*⁽⁵⁹⁾ Además, se conoce que en el norte de Nigeria, el sacrificio de animales lo realizan principalmente las personas del sexo masculino, lo que respalda aún más el mayor riesgo de infección de éstos, en comparación con las mujeres, que por lo general se involucran en prácticas más seguras.⁽⁶⁰⁾

Los resultados de esta tesis demuestran el predominio del sexo masculino en la población afectada por Brucelosis de Esmeralda. Este hallazgo, no coincide con los reportes de La Secretaría de Salud en México (2016), Cardozo en Paraguay (2019), y Qurbonov en Tayikistán (2024).

Muchas causas pueden atribuirse a tal comportamiento, pero resulta meritorio destacar que, en el Anuario Estadístico de Cuba, se refleja que, en la población de Esmeralda, en 2025, hay 13 394 varones y 13 054 mujeres. Como se observa hay un ligero predominio en la población masculina en el área afectada.

En la presente investigación, predomina el grupo de edades 45 -54 años y el de 0 - 14 años. Este resultado coincide con algunos reportes a nivel mundial, como es el caso del que se realiza en México, donde se reporta que el grupo más afectado es el de 45 a 49 años de edad.⁽⁵⁶⁾

Por otra parte, y de forma discordante está el estudio que se lleva a cabo en Tayikistán y encuentra que, de 57 individuos el 68% tienen edades comprendidas entre los 15 y 44 años.⁽²⁸⁾

Como se describe en el Anuario Estadístico de Cuba, en el 2025 la población de Esmeralda, Camagüey, tiene un 27,9 % (176 635/653 203) de personas que están en el rango de edades entre los 35 a 54 años.⁽⁶¹⁾ Este reporte justifica que en el presente estudio predominen las edades señaladas.

La descripción de la variable de color de la piel, no es frecuente en las caracterizaciones de brotes epidémicos de brucelosis humana. En nuestro medio, ésta se reporta solo en un estudio (tesis) que analiza el comportamiento de la vigilancia de la enfermedad para los humanos, y en este trabajo, el color de la piel blanca también prevalece.⁽¹²⁾ Otro de los trabajos que se emplean con mayor frecuencia en las publicaciones cubanas, para explicar este tema, es la que lleva a cabo por Pila Pérez en la misma ciudad de Camagüey, donde se resalta que el color de piel blanca prevalece dentro de la población de esta ciudad.⁽⁶²⁾

No se encuentran en la literatura revisada, otro artículo que aborde el comportamiento del color de la piel en individuos asociados a brotes epidémicos de brucelosis, ni en Cuba, ni internacionalmente. Los resultados de la tesis coinciden solo con un trabajo nacional que aborda el análisis de esta variable. Esto pudiera deberse a, que como se conoce la brucelosis es una enfermedad que se transmite fundamentalmente por contacto con animales infectados o por consumir productos lácteos no pasteurizados. Esta entidad no depende de características externas como la pigmentación de la piel, sino de factores como exposición ocupacional, consumo

de alimentos contaminados, condiciones de higiene y control sanitario deficiente y la respuesta del sistema inmunológico del paciente.

De igual manera, con respecto a la variable del nivel de escolaridad, en esta investigación predomina el de secundaria básica terminada. En este particular, no hay reportes nacionales ni internacionales, que sirvan para discutir este tema.

No obstante, los resultados de la tesis pudieran respaldarse con la información que brinda el Anuario estadístico del año 2025 en Cuba,⁽⁶¹⁾ donde se refleja que al concluir el curso académico 2023 – 2024, el 95,7 % de la población mayor de 14 años en Camagüey tiene el nivel de secundaria básica terminada. Los resultados de esta variable en el contexto de un brote epidémico son útiles para analizar hallazgos en nuevas investigaciones.

Los resultados de esta investigación muestran el predominio de las ocupaciones sin riesgo epidemiológico (61,2 %), destacándose en particular, la condición de estudiante (12,2 %), ama de casa (8,2 %) y el ser ingeniero con un 6,2 %.

En el año 2019, en Paraguay se realiza otro estudio centrado por la facultad de Veterinaria de la Universidad Nacional de Asunción, con la finalidad de caracterizar el patrón epidemiológico de brucelosis, a partir de un brote epidémico. De los 100 pacientes estudiados, 35 pacientes presentan serología positiva y de ellos, 25 son veterinarios para un 71,4 %.⁽²⁷⁾

Otro estudio realizado en España, en 1998, en Andalucía, Sevilla, registra una serie de casos de brucelosis, en 8 jóvenes varones residentes en distintos municipios de esta localidad. Ellos son todos trabajadores de un matadero de una localidad próxima a dicha ciudad. Entre los enfermos, indistintamente, el 87% se relaciona con la zona de sacrificio, el 85% con la limpieza y el 79% con el despiece. En este evento epidemiológico se concluye que la rotura de la tubería transportadora de las vísceras de los animales sacrificados infestados con *Brucella* spp., lo que produce la salida al ambiente de partículas en aerosol que contaminan a los trabajadores de las áreas próximas. Esto avala la evidencia científica sobre la importancia de la vía aérea como mecanismo de transmisión de la enfermedad en el ámbito laboral.⁽²⁶⁾

En 2024 se publica un meta análisis que centra una revisión sistemática de la brucelosis en países del Medio Oriente, región donde la enfermedad sigue siendo un importante problema de salud pública. En este sentido se analizan 92

investigaciones entre 1993 y 2024 y se encuentra la tasa de prevalencia, los factores de riesgo, así como los métodos de diagnóstico para la confirmación de la enfermedad en humanos. Diversas profesiones, como agricultores, trabajadores de fábricas de lácteos y personal agrícola, muestran la tasa de prevalencia más alta.⁽⁵⁷⁾

De igual modo, en México, en el año 2016 también se clasifica a la brucelosis como una enfermedad ocupacional con predominio en los granjeros, veterinarios, trabajadores de mataderos y carniceros, entre otros.⁽⁵⁶⁾

Entre la literatura consultada, se encuentra un meta-análisis que se realiza en Etiopía, que incluye la descripción del comportamiento de factores de riesgo asociados a la infección por *Brucella* spp., en humanos y animales, en el periodo desde 2015 y hasta 2024. La mayoría de los trabajos que se relatan en esta investigación, resaltan que el estilo de vida pastoral, la residencia rural y el analfabetismo se identifican como factores de riesgo para la brucelosis en humanos. En este mismo estudio, la seroprevalencia por *Brucella* varía entre los diferentes grupos de trabajo. Los investigadores reportan que los trabajadores involucrados en el parto de animales tienen el doble de probabilidades de dar positivo a la prueba de brucelosis en comparación con otros grupos. En África, los agricultores y carniceros a menudo ayudan en el parto, manipulan placentas retenidas y comercian con úteros grávidos.⁽⁶³⁾ Sin embargo, los estudios de Aworh *et al.*⁽⁶³⁾, Esmaeili *et al.*⁽⁶⁴⁾ en Irán, y Swai y Schoonman⁽⁶⁵⁾, en Tanzania, muestran que los trabajadores que usan protección para las manos y los pies son menos propensos a adquirir la infección por *Brucella* spp.⁽⁵⁸⁾

Los resultados que se obtienen en la tesis denotan, que la infección por brucelas puede adquirirse no solo por desarrollar profesiones a fines con el contacto directo con los animales enfermos o sus productos patológicos que pueden ser la fuente de infección.

Entre las medidas para no adquirir la enfermedad se encuentran el uso de guantes, mascarilla y bata que protejan a los individuos que se exponen a animales que pudieran estar infectados. Por otra parte, el control de la brucelosis humana depende del control de la enfermedad animal. Esto se logra mediante amplios y costosos programas enfocados a la vacunación de los animales y al sacrificio de los que estén enfermos. Además, es importante promover hábitos alimenticios adecuados como son la cocción adecuada de los alimentos y la pasteurización de la

leche.⁽²¹⁾

Las profesiones no vinculadas directamente con el riesgo típico ocupacional, también, en nuestras condiciones, son propensas a adquirir la infección por Brucelas, lo que indica lo compleja y dinámica que resulta el comportamiento epidemiológico de esta enfermedad.

En los trabajos revisados se destaca la fuerte asociación entre la brucelosis humana y factores como la manipulación de material abortado, el contacto con animales enfermos, así como el consumo de leche cruda, quesos artesanales y carnes mal cocinadas. Estos hallazgos sugieren que los factores socioeconómicos desempeñan el papel más significativo en la propagación de la brucelosis humana.⁽²⁹⁾

Estas revisiones enfatizan la necesidad de realizar estrategias personalizadas para controlar la brucelosis en los países afectados, destacando la importancia del diagnóstico oportuno y la concienciación pública.⁽⁵⁷⁾

Las vías por las que con mayor frecuencia el hombre enferma son la ingestión de productos alimenticios provenientes de animales infectados, como la leche cruda, quesos, mantequilla y helados; el contacto de las mucosas humanas con sangre, orina, secreciones vaginales, placenta o fetos abortados de animales enfermos; la inhalación del microorganismo en ambientes contaminados como establos; y por inoculación accidental durante el trabajo en laboratorios de diagnóstico y durante la vacunación del ganado con vacunas vivas. La transmisión persona a persona es poco frecuente.⁽¹⁾

En la tesis, predomina la ingesta de productos lácteos (leche, yogurt y otros) sin pasteurizar, como fuente de infección, con un 63,3%.

En la comunidad de Castilla, en España, donde la brucelosis es una enfermedad tradicionalmente endémica, el sector ganadero sigue siendo el más afectado, asociado con la elaboración de productos lácteos, como el queso de oveja. En esta población existe la costumbre arraigada de consumir productos lácteos y sobre todo queso fresco sin pasteurizar, lo cual origina de forma frecuente brotes epidémicos. En el año 1996 existe un registro de 81 casos con brucelosis en un período de 25 semanas. En esta investigación se encuentra una fuerte asociación con el consumo de un queso fresco artesano que se elabora por un pequeño productor del municipio,

(OR=31 1,9; IC 95%=41,48-12735), el cual tiene el ganado infectado con *Brucella mellitensis*.⁽²⁵⁾

Este brote demuestra el riesgo existente en España de adquirir la brucelosis mediante el consumo de derivados lácteos no pasteurizados, en especial el queso, que escapan a los controles sanitarios habituales. Se demuestran también los beneficios que aporta la investigación epidemiológica en la búsqueda de casos y en la determinación del factor responsable del brote. Se determina que la intensificación del control y el saneamiento de la cabaña ganadera, así como la educación sanitaria son los instrumentos adecuados para controlar esta zoonosis en ese país.⁽²⁵⁾

En el meta-análisis que se publica en 2024 por Dadara *et al.* en Medio Oriente, el abordaje de los resultados de 92 investigaciones (1993 y 2024), permite identificar que los factores de riesgo asociados a la brucelosis humana en esa región son el consumo de lácteos no pasteurizados y el contacto cercano con animales.⁽⁵⁷⁾ Del mismo modo, en Tayikistán, en 2024, se publica que la adquisición de brucelosis humana se asocia con el consumo de kaymak (nata coagulada) casera y carne de animales criados en casa (OR: 59 [IC del 95 %: 4,3-798], $p < 0,01$) y con la participación en el sacrificio de animales (OR: 36 [2,8-461], $p < 0,01$), fundamentalmente. El contacto con ganado no vacunado o el consumo de sus productos fue un factor clave en este brote.⁽²⁸⁾

Asimismo, la investigación que se realiza en Etiopía, por Getaneh *et al.*, en la que se analizan estudios entre 2015 y 2024 revela una fuerte asociación entre la brucelosis humana y factores como la manipulación de material abortado, el consumo de leche cruda y el consumo de leche cruda de vacas con membrana fetal retenida.⁽⁵⁸⁾

Los resultados de esta investigación respaldan otros que durante la última década se reportan en el contexto nacional.

En nuestro medio, debido a las limitaciones en la producción industrial de alimentos que se analicen en laboratorios certificados, en los últimos 30 años se incrementa la producción artesanal de productos lácteos que se utilizan para el autoconsumo familiar y el comercio.

Este fenómeno evade los mecanismos de detección de brucelas en estos alimentos y propicia la transmisión de las bacterias por esta vía, lo que también se demuestra en el estudio de brote que se realiza en esta investigación.

Los principales reservorios de las brucelas son los animales de granja. Entre los más frecuentes se encuentran las ovejas, las cabras, el ganado vacuno, los cerdos, los perros, los caballos y los camellos. Los animales enfermos son capaces de excretar las bacterias durante mucho tiempo a través de los fluidos uterinos, los fetos muertos, la placenta o la leche materna.^(20, 21)

En cuanto al contacto con animales reservorios de *Brucella* spp., los bovinos prevalecen en esta investigación, con un 51%. Este resultado coincide con el reporte que se realiza en Tayikistán, en 2024, donde de los 57 individuos que se estudian, todos demuestran tener contacto directo con el ganado (vacuno, ovino o caprino), animales que no habían sido vacunado en los últimos 5 años. El contacto con ganado no vacunado, o el consumo de sus productos, es un factor clave en este brote en una aldea remota de Tayikistán.⁽²⁸⁾

Entre las investigaciones cubanas que abordan el estudio de brotes por brucelosis, son escasos los que reportan el contacto con bovinos como única o principal fuente de infección.

En el caso de la provincia de Camagüey, tiene en la ganadería y la industria azucarera sus dos principales sostenes de su desarrollo económico. Camagüey continúa siendo la principal provincia ganadera cubana, con una masa estimada de más de 68 853 cabezas de ganado, pero posee también importantes empresas de crianza equina y bufalina. De igual forma, los alimentos y la leche elaborados en esta provincia, se utilizan para abastecer a territorios vecinos que no cuentan con dichos recursos. En resumen, la provincia produce el 25 % de la leche vacuna del país.⁽⁶⁶⁾

El predominio de los síntomas y signos de fiebre (59,1%) y las mialgias (55,1%), que se reportan en la tesis, coinciden con el hallazgo del 2019, en Paraguay, donde se demuestra la prevalencia de la astenia, la fiebre, las artralgias, las mialgias, la sudoración nocturna, la cefalea, la anorexia y la pérdida de peso, en tres pacientes que se diagnostican con sacroileitis, 12 con artritis, y uno con osteomielitis.⁽²⁷⁾

En el estudio que se realiza en Tayikistán, en 2024, de los 57 individuos, se observa

que los síntomas más comunes son el dolor articular (95%), la fiebre (84%), la debilidad (72%) y los sudores nocturnos (65%).⁽²⁸⁾

Es bien conocido que la brucelosis es una enfermedad que provoca durante su cortejo clínico, una gran diversidad de síntomas y signos inespecíficos, que van a perdurar sobre todo durante las fases aguda y subaguda de la infección. El inicio de las manifestaciones clínicas de la forma aguda se caracteriza por cefalea, fiebre, artralgias, mialgias y diaforesis (sudoración profusa) de predominio nocturno.⁽⁶⁷⁾

Las manifestaciones clínicas dependen de la vía de transmisión del microorganismo, por lo que puede parecerse prácticamente a cualquier infección; por ejemplo, si la vía de transmisión es respiratoria, el paciente cursa con un cuadro de neumonía; si entra por la piel las manifestaciones incluyen celulitis y linfadenopatía regional; si entra por el sistema digestivo, por la ingestión de alimentos contaminados, principalmente leche y sus derivados, se presentan síntomas gastrointestinales y posteriormente sistémicos.⁽⁶⁸⁾

Los microorganismos pueden diseminarse a otros tejidos vía sanguínea, principalmente hígado, bazo, sistema esquelético y médula ósea. Esto se manifiesta por una hepatomegalia y una esplenomegalia, así como en las complicaciones más frecuentes que son espondilitis, sacroileítis y artritis.⁽⁶⁸⁾

La forma crónica, definida como más de un año de evolución, cursa con mialgias, fatiga, artralgias y depresión. Es muy rara en los niños, y afecta predominantemente a adultos sobre los treinta años de edad. Se asocia a infección por *B. melitensis*.⁽⁶⁷⁾

Los resultados de la tesis coinciden con la literatura que se consulta para su discusión. No existen variaciones que puedan alterar los reportes sobre los síntomas y signos que tradicionalmente se presentan por la mayoría de los autores.

El empleo de la doxiciclina y la rifampicina prevalecen como los antimicrobianos más utilizados en los pacientes del brote epidémico de Esmeralda. Estos resultados coinciden con los reportes que se efectúan en 2019, en el brote de Paraguay, donde se manifiesta que el tiempo de tratamiento, que es de 45 a 90 días, en los casos del evento, resulta prolongado. La mono o multiterapia con antimicrobianos, depende en mayor medida de las complicaciones que presenten los casos expuestos a la

infección. En este particular, el 100% de los pacientes recibe el esquema habitual con Doxiciclina más Rifampicina.⁽²⁷⁾

Este resultado científico, se iguala a lo que se reporta en la tesis. El uso combinado de la doxiciclina más la rifampicina resalta su valor terapéutico en los casos con brucelosis del brote de Esmeralda.

La confirmación molecular permite, en este trabajo, la detección de un mayor porcentaje de individuos con brucelosis, cifra que alcanza un 93,9% (46/49).

Al consultar la bibliografía nacional e internacional, aparecen estudios como el que se realiza en el Medio Oriente, por Dadara *et al.*, en 2024. En este particular, la tasa de prevalencia de *Brucella* spp. varía según los métodos de detección de la bacteria, así por ejemplo, con el ensayo de aglutinación por inmunocaptura (Brucellacapt) se muestra la tasa de prevalencia más alta (44,04 %, IC del 95 %: 27,71–61,04), siguiéndole en orden decreciente el estudio por la técnica molecular de PCR (39,84 %, IC del 95 %: 20,14–61,39) y el cultivo (29,22 %, IC del 95 %: 17,89 – 42,03).⁽⁵⁷⁾

Investigaciones que se realizan en el año 2019, en Paraguay , muestran sin embargo, que al caracterizar el patrón epidemiológico de brucelosis a partir de un brote epidémico ocurrido en esa localidad, 35 individuos resultan positivos serológicamente, de los 100 estudiados, para un 35 % de positividad.⁽²⁷⁾

Debemos resaltar que la serología no responde de igual manera que la biología molecular en nuestro estudio. De los resultados que se alcanzan se muestra un predominio mayor de serologías no reactivas, con un 80,4%, siguiéndole en orden decreciente las serologías sospechosas con un 17,4% (8/46) y las positivas con un 2,2% (1/46). Esta metodología tiene importancia dentro de las descritas como herramientas serológicas. Por fundamento, el brucellacapt detecta anticuerpos aglutinantes y no aglutinantes, presentes en los casos que cursan clínicamente por las diferentes fases clínicas de la enfermedad, incluyendo la de cronicidad.

Los bajos porcentajes de positividad en las pruebas serológicas para brucelosis humana suelen deberse a factores como la variabilidad de las cepas de *Brucella*, la fase clínica de la enfermedad, la calidad y estandarización de los antígenos usados, y la respuesta inmunológica del paciente. En otras palabras, no siempre reflejan ausencia de infección, sino limitaciones técnicas y biológicas del diagnóstico.

Los factores relacionados con la bacteria “per sé”, responden a diferentes causas entre los que se encuentran la heterogeneidad de las diferentes especies de *Brucella*. En el caso de *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, patógenas para el hombre, se conoce que presentan variaciones antigénicas que pueden afectar la sensibilidad de las pruebas serológicas. Otro factor es la existencia de cepas rugosas y lisas que expresan antígenos diferentes; si el antígeno usado no corresponde, la prueba puede dar falsos negativos. Esto es lo que ocurre con los anticuerpos que se producen contra *B. canis*, cepa rugosa, que escapa al diagnóstico cuando se utiliza el lipopolisacárido de la membrana externa de las cepas lisas.⁽⁶⁹⁾

Entre los factores atribuibles al paciente se encuentran la fase de la enfermedad por la que esté cursando, ya que, en etapas iniciales, los anticuerpos aún no alcanzan niveles detectables, mientras que, en fases crónicas, pueden disminuir o cambiar de clase. También la respuesta inmunológica individual determina el valor práctico de una técnica de laboratorio, porque algunos pacientes generan títulos bajos de anticuerpos o presentan inmunosupresión, lo que reduce la positividad del método. Por último, se debe considerar las infecciones previas o vacunación del animal reservorio, debido a que la exposición repetida puede modificar la respuesta serológica y dificultar la interpretación de los resultados.⁽⁶⁹⁾

Por último, se deben mencionar los factores técnicos y metodológicos intrínsecos a las herramientas serológicas que se utilicen. En este sentido se pueden mencionar la normalización deficiente de antígenos atribuible a una ineficiente conservación y preparación de estos, lo cual influye en la calidad de la prueba. Por otra parte, el uso de bacterias completas como antígenos puede generar reacciones cruzadas con otras bacterias Gram negativas, reduciendo la especificidad de las pruebas. No menos importante resultan la toma y conservación de muestras, ya que los sueros mal almacenados o contaminados afectan la confiabilidad, especificidad y sensibilidad de los procedimientos en uso.⁽⁶⁹⁾

Estas consideraciones pueden ser válidas en el análisis de los resultados serológicos de la tesis.

Como se observa en este documento, los métodos moleculares superan, en el brote de Esmeralda, la positividad de los resultados con respecto al diagnóstico serológico. Como se conoce, la técnica molecular de PCR ofrece ventajas en el diagnóstico de la brucelosis humana, porque es una metodología rápida, sensible y específica, con

respecto a las pruebas serológicas o el cultivo de la bacteria. La PCR permite detectar la infección por *Brucella* spp., en fases tempranas o crónicas, y reduce el riesgo biológico al no requerir manipulación prolongada de la bacteria. La alta sensibilidad y especificidad es atribuible a la detección directa del ADN de *Brucella* spp., evitando falsos negativos que ocurren en serología por baja respuesta inmunológica.⁽⁷⁰⁾

Una mayor precisión muestra la PCR, frente a los hemocultivos, que suelen tener una sensibilidad menor. Mediante los métodos moleculares se obtiene una mayor rapidez en el diagnóstico, puesto que los resultados se obtienen en pocas horas, frente a los cultivos que requieren días o semanas. Todos estos factores, permiten iniciar el tratamiento oportuno y reducir las complicaciones de los casos. Debe considerarse también, la seguridad biológica que brindan los métodos moleculares al trabajar con material genético y no con bacterias vivas, lo que disminuye el riesgo de infección para el personal de laboratorio. Es importante expresar, además, que la versatilidad de muestras también influye en los éxitos de la PCR, ya que puede aplicarse en sangre, médula ósea, tejidos o fluidos corporales, aumentando las posibilidades de confirmación diagnóstica.⁽⁷⁰⁾

Estos elementos se tienen presentes al analizar los resultados particulares del diagnóstico molecular, y su aplicación para la confirmación del brote de Esmeralda, Camagüey.

VI. DISCUSIÓN GENERAL

El impacto de la investigación que se presenta en la tesis, para el abordaje de un brote epidémico ocurrido en Esmeralda, Camagüey, sin duda alguna, incrementa la información científica acumulada sobre la enfermedad en Cuba y la región de las Américas, al generar evidencias sobre un brote lo que impulsa la necesidad de recopilar datos clínicos, epidemiológicos y sociales sobre los individuos sospechosos asociados en tiempo y espacio, permitiendo comprender mejor la dinámica de transmisión, factores de riesgo y eficacia de las intervenciones.

Esta tesis demuestra la transparencia y comunicación al difundir esta información científica que, además, es confiable y evita la desinformación de la población en estudio, lo que fortalece la confianza pública y la veracidad del Programa de Prevención y Control de esta Zoonosis.

Con la innovación en el diagnóstico y el tratamiento clínico de los casos del brote, suele destacarse, el empleo de nuevas pruebas rápidas, terapias convencionales y posibles estrategias vacunales para un futuro en el país y la región.

El impacto científico y técnico de este abordaje hace tener una mayor capacidad de respuesta y una mejor toma de decisiones basadas en evidencias científicas, lo que disminuye, entre otros factores, la morbilidad por brucelosis y la aparición de discapacidades temporales o permanentes por esta causa, en el territorio afectado y en el país en general.

El fortalecimiento de los algoritmos permite, en su esencia, tener modelos predictivos que se sustentan en la estadística observacional y permiten anticipar la evolución del brote, identificar zonas de riesgo y proyectar necesidades hospitalarias. En otras palabras, la detección temprana de la enfermedad, fortalece y enriquece los sistemas de vigilancia integrada, apoyados en algoritmos, y ayudan a reconocer patrones inusuales en síntomas, consultas médicas o movilidad poblacional.

La presente investigación permite que el Programa Nacional de Prevención y Control de las Zoonosis en Cuba, obtenga una respuesta más rápida confirmatoria de un

evento epidémico en los humanos, en una región cubana, de forma eficiente y focalizada.

La identificación temprana de los casos y sus contactos contribuye a la reducción considerable de los costos médicos, incluyendo las estancias hospitalarias, así como la diseminación de la infección hacia nuevos contactos o grupos familiares.

VII. CONCLUSIONES

- El predominio de las variables socio-demográficas, clínico-epidemiológicas en los pacientes con brucelosis, del área de Esmeralda, coinciden con lo descrito en la literatura y es de utilidad para la vigilancia realizada con el Programa Nacional de Zoonosis, información que enriquece el conocimiento relacionado con los brotes epidémicos en Cuba.
- Se detecta en un alto porcentaje del ADN de *Brucella* spp. en muestras de individuos relacionados entre sí en tiempo y espacio, que cursan por las fases agudas y subaguda, lo que permite el manejo clínico oportuno y temprano de la enfermedad, así como el control del evento epidemiológico.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Incorporar los métodos moleculares para la detección de *Brucella* spp. al algoritmo de laboratorio para el abordaje y manejo de los brotes epidémicos de la enfermedad, en Cuba.
2. Continuar incidiendo con los hospitales y Centros Provinciales del país sobre el uso del modelo de microbiología que contiene la información clínico epidemiológica necesaria para el adecuado uso e interpretación de las tecnologías disponibles en el laboratorio.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bagheri H, Tapak L, Karami M, Hosseinkhani Z, Najari H, Karimi S, *et al.* Forecasting the monthly incidence rate of brucellosis in west of Iran using time series and data mining from 2010 to 2019. PLoS One. 2020[citado 5 abr 2021];15(5):e0232910. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7217463/>
2. Omolbanin A, Alireza R, Masoud M, Parisa Z, Ahmadsreza Z. A review of the immunopathogenesis of *Brucellosis*. Infect Dis (Lond). 2019;51(5):321-33. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/23744235.2019.1568545>
3. Valle-Pimienta T, Lago-Dí Y, García-Marrero I. Resultados de intervención educativa sobre brucelosis humana en zonas de riesgo de enfermar en Argelia. Rev Ciencias Médicas[Internet]. 2018[citado 8 abr 2021];2018(4):804-14. Disponible en: www.revcmpinar.sld.cu/index.php/publicaciones/article/view/3467.
4. Guerrero R, Vélez M, Cevallos K, Mendoza M. Causas, síntomas y tratamiento a los pacientes contagiados por brucelosis. RECIMUNDO[Internet]. 31oct.2020[citado 25 ene 2025];4(4):382-91. Disponible en: <https://recimundo.com/index.php/es/article/view/915>
5. Garshasbi M, Ramazani A, Sorouri R, Javani S, Moradi S. Molecular detection of *Brucella* species in patients suspicious of Brucellosis from Zanjan, Iran. Microbiol. 2014;45(2):533-8. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822014005000048>.
6. Dolz R, Collado P, Moliner FJ, Salvo MS. Family outbreak of brucellosis. The importance of epidemiological suspicion. Rev Esp Salud Publica. 2020[citado 26 en 2025];94. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11583135/>
7. Sánchez-Serrano LP, Mangas-Gallardo I, Martínez-Navarro JF, Cano-Portera R. BRUCELOSIS EN ESPAÑA: ESTUDIO Y VALORACIÓN DE BROTES EPIDÉMICOS. Gaceta Sanitaria. 1999;13:9226. Disponible en: <https://www.gacetasanitaria.org/es-brucelosis-en-espana-estudio-y-articulo-13012182>
8. Mendoza O, Ramírez W, Yera G, Rosales Y, Mora E. La Brucelosis en bovinos de una provincia oriental de Cuba, en el período 2012-2014. Rev Electrón vet. 2015; 16 1-11. Disponible en: <file:///C:/Users/dr/Downloads/63638742004-2.pdf>
9. González M, Pérez MC, Guerra HE, Solano R, Casanova MC. Evaluación del control de foco de un caso de brucelosis. Rev Ciencias Médicas[Internet]. 2011[citado 13 may 2025];15(2):320-9.
10. Lugo O, Obregón AM, Echevarría E, Baly A. Microtécnica del FAB para la pesquisa de anticuerpos contra *Bucella* spp Cuba Salud 2018[citado 11 oct 2023]. Disponible en: <http://www.convencionsalud2018.sld.cu/index.php/convencionsalud/2018/paper/view/1488/564>
- .
11. Diagnosis of Brucellosis in Humans. Vet Adv[Internet]. 2012[citado 26 en 2025]:149-56.
12. Lugo O. Abordaje clínico epidemiológico de brucelosis humana en Cuba. Implementación del diagnóstico temprano de laboratorio. IPK. 2015-2016. [Especialidad]. La Habana: Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri"; 2016Disponible en.
13. Hernández D, Obregón AM, Echevarría E, Lugo O. Prueba molecular cuantitativa de PCR para el diagnóstico de la brucelosis humana en Cuba. IPK 2021.[citado 13 may 2025] Disponible en.
14. Castillo Z, Obregón AM, Echevarría E, Lugo O. Investigaciones clínicas-epidemiológicas y serológicas-moleculares de la brucelosis humana(2012-junio 2023) 2023.[citado 13 may 2025] Disponible en.
15. About F, Pastre T, Boutrou M, Martinez AY, Melzani A, Peugny S, *et al.* Novel Species of *Brucella* Causing Human Brucellosis, French Guiana. Emerg Infect Dis[Internet]. 2023;29(2):333-40.
16. Barreto G, Rodríguez H, Barreto H. Brucelosis, aspectos que limitan su justa valoración. . Rev Salud Anim[Internet]. 2021[citado 20 nov 2025];43(1):e07. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253570X2021000100001&lng=es
17. Flores S, Esthefany L, Tirado S, Paulina M. Brucelosis, revisión bibliográfica. Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar[Internet]. 2023[citado 20 sep 2023];7(1):6930-44. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/368912843_Brucelosis_revision_bibliografica
18. Franc K, Krecek R, Häslér B, Arenas-Gamboa A. Brucellosis remains a neglected disease in the developing world: a call for interdisciplinary action. BMC Public Health. 2018[citado 20 sep 2023];18(1):125. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29325516/>
19. Laine C, Johnson V, Scott H, Arenas-Gamboa A. Global Estimate of Human Brucellosis Incidence. . PMID[Internet]. 2023[citado 20 sep 2023];29(9):1789-97. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37610167/>

20. Mohammed A, Abdulmajeed S, Nasser F, Abdulaziz K, Saleh J, Sultan M, *et al.* Overview of Brucellosis: Simple Review Article. Pharmacophore[Internet]. 2022[citado 28sep 2023];13(2):101-6. Disponible en: <https://pharmacophorejournal.com/article/overview-of-brucellosis-simple-review-article-bmamz5bfkmc6ft>
21. Moreno E, Blasco J, Moriyón I. Facing the Human and Animal Brucellosis Conundrums: The Forgotten Lessons. PMID[Internet]. 2022[citado 20 sep 2023];10(5):942. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35630386/>
22. Bendre A, Patil S. World Health Organization (WHO). (2025). "Brucellosis". "Brucellosis: An Overview". J Clin Microbiol Antimicrobials [internet]. 2020;[citado 21 dic 2025];12(1):1-8. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/brucellosis>
23. García-Morato J, García-Bocanegra I. Brucellosis: a re-emerging zoonosis. Vet Microbiol[Internet]. 2014;[citado 21 dic 2025];172(1-2):1-10.
24. Spickler A. Title of Factsheet.The Center for Food Security and Public Health. [Internet]. 2025;[citado 21 dec 2025]. Disponible en: <https://cfsph.iastate.edu/diseaseinfo/factsheets/>..
25. Castell J, Rullán John V, Fernando E, Nieto-Sandoval A. ESTUDIO DE UN BROTE EPIDÉMICO DE 81 CASOS DE BRUCELOSIS CONSECUTIVO AL CONSUMO DE QUESO FRESCO SIN PASTEURIZAR. Rrv Esp Salud Públca. 1996[citado 3 dic 2025];70:303-3111.
26. Luna A, Rodríguez de Cepeda A, Suárez T. ANALISIS DE UN BROTE EPIDÉMICO DE BRUCELOSIS EN TRABAJADORES DE UN MATADERO. Rev Esp Salud Publica. 1998[citado 3 dic 2025];72(2):137-46. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-57271998000200007
27. Cardozo M. Estudio de un Brote epidémico de Brucelosis, relacionado con la cría de caprinos destinada a actividades académicas, en la facultad de Veterinaria Universidad Nacional Asunción. Rev Inst Med Trop. 2019.[citado 3 dic 2025];14(2). Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1387414>
28. Qurbonov E, Silemonshoeva J, Horth R, Tilloeva Z, Yusufi S, D. N. Brucellosis outbreak in a remote village in northwestern Tajikistan in 2023: a matched case-control study. Front Epidemiol. 2024.[citado 3 dic 2025];4. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fepid.2024.1470917>.
29. Wen X, Wang Y, Shao Z. The spatiotemporal trend of human brucellosis in China and driving factors using interpretability analysis. Scientific Reports. 2024[citado 3 dic 2025];14(1):4880. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-55034-4>
30. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Microbiología médica. Elsevier Health Sciences;. 2021.
31. Mohammed Ghannam T, Abdulmajeed Sard A, Nasser Fahad A, Abdulaziz Khalaf A, Saleh Jadid A, Sultan Mudhhi A, *et al.* Overview of Brucellosis: Simple Review Article. Pharmacophore. 2022;13(2):101-6. Disponible en: <https://pharmacophorejournal.com/article/overview-of-brucellosis-simple-review-article-bmamz5bfkmc6ft>
32. Głowacka P, Żakowska D, Naylor K, Niemcewicz M, Bielawska-Drózd A. Brucella - Virulence Factors, Pathogenesis and Treatment. Pol J Microbiol[Internet]. 2018[citado 20 sep 2023];67(2):151-61. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30015453/>
33. Bennett N, Lisgaris M. Brucellosis. Medscape. Medscape. 2021[citado 20 sep 2023]. Disponible en: <https://emedicine.medscape.com/article/213430-overview>
34. Zheng R, Xie S, Lu X, Sun L, Zhou Y, Zhang Y, *et al.* A Systematic Review and Meta-Analysis of Epidemiology and Clinical Manifestations of Human Brucellosis in China. Biomed Res Int[Internet]. 2018[citado 12 sep 2023];2018:5712920. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2018/5712920>
35. O'Callaghan D. Human brucellosis: recent advances and future challenges. Infectious Diseases of Poverty[Internet]. 2020[citado 12 sep 2023];9(1):101. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s40249-020-00715-1>
36. Escobedo L, Falcón N. Características epidemiológicas y clínicas de infecciones por Brucella melitensis en pacientes del Hospital Nacional «Daniel A. Carrión», Callao, Perú (2007-2014). Rev investig vet Perú 2018[citado 21 dic 2025];29(3):1018-24. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172018000300034&nrm=iso
37. Leclercq S, Cloeckart A, Zygmunt M. Taxonomic Organization of the Family Brucellaceae Based on a Phylogenomic Approach. Frontiers in microbiology. 2020[citado 10 sep 2023];10:3083. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/338920178_Taxonomic_Organization_of_the_Family_Brucellaceae_Based_on_a_Phylogenomic_Approach# Citations
38. Soares P, Teles J, dos Santos A, Silva S, Cruz V, da Silva-Júnior F. Prevalence of Brucella spp in humans. Revista latino-americana de enfermagem[Internet]. 2015[citado 21 dic 2025];23(5):919-26. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26487143/>

39. Elbehiry A, Aldubaib M, Marzouk E, Abalkhail A, Almuzaini M, Rawway M, *et al.* The Development of Diagnostic and Vaccine Strategies for Early Detection and Control of Human Brucellosis, Particularly in Endemic Areas. Vaccines[Internet]. 2023[citado 21 sep 2023];11(3). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36992237/>
40. Weinborn R, Zanelli M, Troncoso I, Opazo Á, Valenzuela K, Cárdenas S, *et al.* Brucelosis en personas con riesgo ocupacional en clínicas veterinarias de dos ciudades del centro sur de Chile. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. 2020;31. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172020000400035&nrm=iso
41. Sankarasubramanian J, Vishnu U, Khader L, Sridhar J, Gunasekaran P, Rajendhran J. BrucellaBase: Genome information resource. Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases. 2016[citado 21 sep 2023];43:38-42. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27164438/>
42. Rivas-Solano O. Brucella abortus: patogénesis y regulación génica de la virulencia. Tecnología en Marcha [internet]. 2015[citado 21 sep 2023];28(2):61-73. Disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0379-39822015000200061&lng=en&tlng=es
43. Bohlin J, Snipen L, Cloeckaert A, Lagesen K, Ussery D, Kristoffersen B, *et al.* Genomic comparisons of Brucella spp. and closely related bacteria using base compositional and proteome based methods. BMC evolutionary biology. 2010[citado 21 dic 2025];10:249. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20707916/>
44. Aroca M. Brucelosis crónica y persistencia de ADN de Brucella melitensis [Doctorado]. España: Universidad Autónoma de Madrid; 2010.[citado 21 dic 2025] Disponible en: <http://hdl.handle.net/10486/6156>.
45. Vera E, San Miguel MC, Vera L, Domínguez K. Características epidemiológicas y diagnóstico de brucelosis en pacientes del instituto de medicina tropical, periodo 2017-2019. Anales de la Facultad de Ciencias Médicas (Asunción). 2020[citado 21 dic 2025];53:49-58. Disponible en: http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1816-89492020000100049&nrm=iso
46. Etemadi A, Moniri R, Neubauer H, Dasteh Goli Y, Alamian S. Laboratory Diagnostic Procedures for Human Brucellosis: An Overview of Existing Approaches. Jundishapur J Microbiol[Review Article]. 2019[citado 21 sep 2023];12(5):e91200. Disponible en: <https://brieflands.com/articles/jjm-91200.html>
47. Centers for Disease Control and Prevention. Brucellosis reference guide: Exposures, testing, and prevention [Internet]. Estados Unidos: CDC; 2017 [updated 2023; citado 2023 21 sep]. Disponible en: <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/46133>.
48. Kaltungo B, Saidu S, Sackey A, Kazeem H. A review on diagnostic techniques for brucellosis. Afr J Biotechnol[Internet]. 2014[citado 21 sep 2023];13(1):1-10. Disponible en: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/116688>
49. Cuba Salud 2018. Microtécnica del FAB para la pesquisa de anticuerpos contra Brucella spp. [Internet]. La Habana: MINSAP; 2018 [updated 2023; citado 2023 11 oct]. Disponible en: <http://www.convencional2018.sld.cu/index.php/convencional2018/paper/view/1488/564>.
50. Yagupsky P, Morata P, Colmenero J. Laboratory Diagnosis of Human Brucellosis. Clinical microbiology reviews[Internet]. 2019[citado 21 dic 2025];33(1):e00073-19. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/cmr.00073-19>
51. Hadush A, Pal M. Brucellosis - An Infectious Re-Emerging Bacterial Zoonosis of Global Importance. Int J Livest Res[Internet]. 2013[citado 12 dic 2025];3:28-34. Disponible en: <https://www.semanticscholar.org/paper/Brucellosis-An-Infectious-Re-Emerging-Bacterial-of-Hadush-Pal/25830e870d0b87e7b5b9c8707d373ebccc764c92>
52. Zeybek H, Acikgoz Z, Dal T, Durmaz R. Optimization and validation of a real-time polymerase chain reaction protocol for the diagnosis of human brucellosis. Folia microbiologica[Internet]. 2020;65(2):353-61. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12223-019-00731-1>
53. Dal T, Kara S, Cikman A, Balkan C, Acikgoz Z, Zeybek H, *et al.* Comparison of multiplex real-time polymerase chain reaction with serological tests and culture for diagnosing human brucellosis. Journal of infection and public health[Internet]. 2018;12(3):337-42. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2018.11.008>
54. Vircell SL. Brucella ELISA IgM, Brucella ELISA IgG y Brucella capt. España Vircell SL. [citado 21 dic 2025]. Disponible en: <http://www.vircell.com>.
55. Queipo-Ortuño M, Colmenero J, Bravo M, García-Ordoñez M, Morata P. Usefulness of a quantitative real-time PCR assay using serum samples to discriminate between inactive, serologically positive and active

- human brucellosis. Clin Microbiol Infect[Internet]. 2008[citado 21 dic 2025];14(12):1128-34. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02095.x>
56. Varela J, Ramirez H , Flores P. Manual para la Vigilancia Epidemiológica de la Brucelosis. Secretaría de Salud Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud Dirección de Epidemiología. 2025[citado 12 ene 2026]. Disponible en: www.salud.gob.mx
 57. Dadara M, Al-Khaza'leh J, Fakhri Y, Akar K, Ali S, Shahali Y. Human brucellosis and associated risk factors in the Middle East region: A comprehensive systematic review, meta-analysis, and meta-regression. Heliyon. 2024[citado 3 dic 2025];10(14):e34324. . Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39100474/>
 58. Dagnaw G, Mamuye Y, Dejene H. Human and animal brucellosis and risk factors for human infection in Ethiopia: a systematic review and meta-analysis (2015-2024). BMC Public Health. 2024;24(1):3495. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12889-024-21042-2>
 59. Igawe PB, Okolocha E, Kia GS, Irmiya IB, Balogun MS, P. N. Seroprevalence of brucellosis and associated risk factors among abattoir workers in Bauchi State, Nigeria. . Pan Afr Med J 2020;[citado 3 dic 2025];7(35);:33. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7247907/>
 60. Osoro EM, Munyua P, Omulo S, Ogola E, Ade F, Mbatha P, *et al.* Strong Association Between Human and Animal Brucella Seropositivity in a Linked Study in Kenya, 2012-2013. . Am J Trop Med Hyg [Internet]. 2015[citado 3 dic 2025];93;(2):224-31. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26101275/>
 61. Oficina Nacional de Estadística e Información. Anuario Demográfico de Cuba 2024 [Internet]. La Habana: ONEI; 2025 [cited 13 en 2026]. Disponible en: <https://www.onei.gob.cu/anuario-estadistico-de-cuba-2024>.
 62. Pila Peláez R, Pila Pérez R, García Peña J, Paulina Basulto M, Hernández Pupo O, Torres Vadella G. Estudio clínico de la brucelosis humana. Rev Med Uruguay [Internet]. 1997[citado 16 oct 2023];13(1):226-7. Disponible en: <https://revista.rmu.org.uy/index.php/rmu/edicion/1997>
 63. Aworh MK, Okolocha E, Kwaga J, Fasina F, Lazarus D, Suleman I, *et al.* Human brucellosis: seroprevalence and associated exposure factors among abattoir workers in Abuja, Nigeria - 2011. Pan Afr Med J. 2013[citado 3 dic 2025];16:103. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24876892/>
 64. Esmaeili S, Naddaf SR, Pourhossein B, Hashemi Shahraki A, Bagheri Amiri F, Gouya MM, *et al.* Seroprevalence of Brucellosis, Leptospirosis, and Q Fever among Butchers and Slaughterhouse Workers in South-Eastern Iran. . PLoS One 2016[citado 3 dic 2025];11;(1):e0144953. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26731333/>
 65. Swai ES, Schoonman L. Human brucellosis: seroprevalence and risk factors related to high risk occupational groups in Tanga Municipality, Tanzania. Zoonoses Public Health 2009;56(4):183-7. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2008.01175.x>
 66. Ruano MP, Maqueira SÁ, Valdés YA, Cuesta MR, Cuní KM, Quesada OH, *et al.* Seroprevalence and factors associated with bovine brucellosis in Pinar del Río province, Cuba. Rev Investig Vet Perú. 2022;33(4):e23341. Disponible en: <https://doi.org/10.15381/rivep.v33i4.23341>
 67. Reyes A, Villarroel J. Brucelosis en un escolar. Rev Chil Infect. 2006;23(4):351-8. Disponible en: <http://doi.org/10.4067/S0716-10182006000400010>
 68. Al Dahouk S, Nöckler K. Implications of laboratory diagnosis on brucellosis therapy. Expert Rev Anti Infect Ther.9(7):833-45. Disponible en: <http://doi.org/10.1586/eri.11.55>
 69. Organización Panamericana de la Salud. Cómo entender el diagnóstico serológico de la brucelosis humana. Washington D. C.: OPS; 1987.
 70. Instituto Nacional de Salud. Parte IV Cultivo y PCR. In: Manual para el diagnóstico de brucelosis. [Internet]. España: PAHO; 2023 [cited 13 en 2026]. Disponible en: https://www.paho.org/sites/default/files/parte_iii_cultivo_y_pcr1_0.pdf.

X. ANEXOS

Anexo 1. Protocolo de extracción de ADN para sueros y sangre total

- Atemperar los buffers y las muestras.
- Adicionar en el fondo de un vial de 1,5 mL 20 µL de Proteinasa K. Utilizar tantos viales como muestras sean.
- Añadir 200 µL de la muestra en el vial donde está la Proteinasa K. Si no se cuenta con esa cantidad de suero o sangre total completar con PBS hasta que se obtenga el volumen requerido.
- Añadir 200 µL de Buffer AL a la muestra y mezclar mediante vórtex por 15 segundos.
- Incubar el vial a 56°C durante 10 minutos.
- Dar golpe de centrifuga para que descendan las gotas que pudieron haber quedado suspendidas en la tapa.
- Adicionar 200 µL de etanol absoluto en frío (96 – 100°C), mezclar en el vórtex durante 15 segundos y dar golpe de centrifuga.
- Cuidadosamente transferir toda la mezcla a una columna QIAamp DNA mini kit® y centrifugar a 8000 rpm por 1 minuto.
- Desechar el tubo con el filtrado y colocar un nuevo tubo colector.
- Añadir 500 µL de Buffer AW1, cuidando no tocar el borde de la columna, y centrifugar a 8000 rpm por 1 minuto.
- Desechar el filtrado, colocar un nuevo tubo colector y adicionar cuidadosamente 500 µL de Buffer AW2. Centrifugar a 14000 rpm durante 3 minutos.
- Desechar el filtrado, colocar un nuevo tubo colector y centrifugar a 14000 rpm durante 1 minuto.
- Desechar nuevamente el filtrado, colocar un vial de 1,5 mL y añadir a la columna 200 µL de Buffer AE o agua bidestilada estéril.
- Incubar a temperatura de laboratorio (15 – 25°C) durante 1 minuto y luego centrifugar a 8000 rpm por 1 minuto.
- Guardar la extracción a – 20°C hasta su uso.

Anexo 2. Diagnóstico molecular

La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) convencional y tiempo real, constituyen métodos adecuados para la detección e identificación de *Brucella* spp. Pese al alto grado de homología del ADN dentro del género *Brucella*, se han desarrollado varios métodos moleculares que permiten, hasta cierto punto, la diferenciación entre especies de *Brucella* y algunas de sus biovariedades, como la PCR, el análisis del polimorfismo en la longitud de fragmentos de restricción ampliados mediante PCR (RFLP) y la transferencia Southern. También se ha desarrollado una electroforesis en gel de campo pulsante que permite la diferenciación entre varias especies de *Brucella*⁷.

Mediante el empleo de la PCR puede biotipificarse *Brucella* y pueden diferenciarse las cepas vacunales de cepas de campo, sin embargo, la PCR se ha validado poco para el diagnóstico primario³.

La primera prueba de PCR múltiple específica de especie para la diferenciación de *Brucella* fue descrita por Bricker y Halling. La prueba, denominada PCR AMOS (abortus-melitensis-ovis-suis), se basaba en el polimorfismo resultante de la localización específica de especie, de la secuencia de inserción IS711 en el cromosoma de *Brucella* e incluía cinco cebadores oligonucleótidos que podían identificar, sin diferenciarlas, las biovariedades 1, 2 y 4 de *B. abortus*, pero no las biovariedades 3, 5, 6 y 9 de *B. abortus*. Con el tiempo, se han introducido modificaciones de la prueba para mejorar el rendimiento, y se han incorporado otros cebadores específicos de cepa para la identificación de las cepas vacunales de *B. abortus* y de otras biovariedades y especies. Se ha propuesto una nueva prueba de PCR múltiple (Bruce-ladder) para la identificación rápida y en un solo paso de *Brucella*. La principal ventaja de esta prueba respecto a las PCR descritas previamente es que permite identificar y diferenciar en un solo paso la mayoría de especies de *Brucella*, así como las cepas vacunales *B. abortus* S19 y *B. abortus* RB51. Además, mediante esta nueva PCR múltiple se pueden detectar las biovariedades 3, 5, 6 y 9 de *B. abortus*³.

Recientemente se han descrito otros procedimientos que permiten la identificación de todas las especies de *Brucella*, biovariedades de *B. suis* y

cepas vacunales basados en la discriminación por polimorfismo de nucleótido único (SNP) mediante la extensión de cebador, PCR en tiempo real o la reacción en cadena de la ligasa. Estas pruebas son rápidas, sencillas e inequívocas y, al basarse en un análisis filogenético robusto, ayudan a garantizar la especificidad de especie/biovariedad de los marcadores que se utilizan³.

También se han descrito otros métodos que pueden añadir información epidemiológica útil. Se trata de un esquema de secuenciación multilocus y de varios esquemas de tipificación basados en la utilización de análisis de repeticiones en tándem de un número variable de locus múltiples (MLVA). Dependiendo de los marcadores concretos escogidos, estos métodos permiten diferenciar las cepas a nivel de especie o incluso subclasificarlas pudiendo llegar a obtener información epidemiológica útil a nivel de subespecie³.

2.1. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

2.1.1. Conceptos generales

La técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, Polymerase Chain Reaction) fue desarrollada en el año 1983 por Kary Mullis. La PCR ha revolucionado la biología molecular y es en la actualidad una de las técnicas moleculares más utilizadas⁸⁻⁹.

El objetivo de esta técnica consiste en la amplificación in vitro enzimática de manera cíclica. Pudiendo ser directa a partir de un gen o un fragmento de Ácido Desoxirribonucleico (ADN), o indirecta de una ARN (Ácido Ribonucleico) a través de su ADN complementario o cADN, a partir de muestras de diversas fuentes¹⁰.

El proceso completo de una PCR convencional (Figura 1), incluye tres pasos, antes de la PCR, consiste en la extracción de los ácidos nucleicos utilizando kits comerciales o protocolos tradicionales, durante la PCR, preparación de la mezcla de reacción y amplificación que incluyen ciclos con etapas de desnaturalización, hibridación y extensión y después de la PCR, basado en el revelado de los productos de amplificación en gel de agarosa¹¹.

2.2. Pasos de la PCR para la detección molecular de *Brucella* spp.

2.2.1. Extracción de ADN de *Brucella* spp. a partir de aislamiento microbiológico.

Cualquier método aceptado de purificación de ADN sería adecuado. Sin embargo, un método simple y eficaz consiste en seleccionar una colonia y, utilizando un asa de siembra estéril, transferir las bacterias a 100 µL de agua de grado PCR. Se debe hervir la suspensión bacteriana durante un mínimo de 5 minutos para matar a las bacterias y facilitar la lisis de la mayor parte de las mismas, permitiendo la obtención del ADN que será utilizado como molde en la reacción⁵.

2.2.2. Secuencias de cebadores o iniciadores para identificación de género, especies y cepas de vacunales de *Brucella*.

Los cebadores, oligonucleótidos, iniciadores o primers (inglés): son secuencias de ADN de cadena sencilla cortas, generalmente sintéticos, de 18 a 20 nucleótidos de longitud. Sus secuencias han de ser complementarias, uno de ellos complementario al extremo 5' de una cadena del ADN molde que hay que amplificar y el otro complementario al extremo 3' de la cadena opuesta de ADN molde, se denominan según la dirección con sentido o directo (Forward) y antisentido o inverso (Reverse). Es necesario que el cebador hibride con el ADN molde, para permitir el inicio de la reacción de extensión por parte de la enzima Taq polimerasa. Es necesario conocer las secuencias de los extremos para poder amplificar la región de ADN molde⁹⁻¹⁰. La información sobre las secuencias de los cebadores puede obtenerse mediante revisión de bases de datos, publicaciones científicas e inclusive puede diseñarse nuevos cebadores. En la Tabla 1, se describen algunos de los cebadores utilizados para la detección molecular del género, especies y cepas vacunales de *Brucella* mediante la técnica de PCR convencional

Tabla 1. Identificación, nombre, secuencia de cebadores y tamaño del amplicón.

Identificación	Nombre	Secuencia de cebadores de 5' a 3'	Producto de amplificación	Ref.
Género <i>Brucella</i>	<i>BSCP31</i>	B4: TGGCTCGGTTGCCAATATCAA B5: CGCGCTTGCCTTTCAGGTCTG	223 pb	14
<i>B. abortus</i> *	<i>eryC-eryD</i>	S19 -1: TTGGCGGCAAGTCCGTCGGT S19-2: CCCAGAAGCGAGACGAAACG	361 pb 1063 pb	1
<i>B. abortus</i> RB51	<i>whoA</i> <i>IS711</i>	Primer-1: TTAAGCGCTGATGCCATTTCCCTTCAC Primer-2: TTTAGTTTGCCGTAATATAGGTCTAGAACCTGTC Primer-3: GCCAACCAACCCAAATGCTCACAA	900 pb 1300 pb	6
<i>B. melitensis</i>	<i>IS711</i>	F: TGCCGATCACTTAAGGGCCCTTCAT R: -AAA TCGCGTCCTTGCTGGTCTGA	731 pb	15
<i>B. melitensis</i> **	<i>rpsLA</i>	F: GAGGGCTGACTCCGAATTTG R: ACGCTTCTCTGCCTTATGGC	510 pb	7
<i>B. ovis</i>		F: GCCTA CGCTGAAACTTGCTTTTG R: ATCCCC CCATCACCATAACCGAAG	228 pb	16

*Actualmente existen una gran cantidad de cebadores, fueron seleccionados algunos para la elaboración de este material.

**Permite la diferenciación de cepas de campo de cepa vacunal S19.

***Se utiliza con enzimas de restricción *NciI*.