



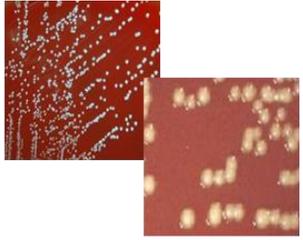
Brucelosis humana

Presentación clínica

Diagnóstico de laboratorio

5^{ta} zoonosis de importancia a nivel mundial

Impactos negativos en salud humana y animal



Incubation Period

- Highly variable (5 days–6 months)
- Average onset 2–4 weeks



Symptoms/Signs

- Acute
 - Non-specific: Fever, chills, sweats, headache, myalgia, arthralgia, anorexia, fatigue, weight loss
 - Sub-clinical infections are common
 - Lymphadenopathy (10–20%), splenomegaly (20–30%)
 - Chronic y recaída ≤ 30 %
 - Recurrent fever
 - Arthritis and spondylitis
 - Possible focal organ involvement (as indicated in the case definition)

Parameter	Occupational exposure (N = 251) ^a	Non-occupational exposure (N = 167) ^b
Osteoarticular	142 (56.6)	93 (55.7)
Hematologic	14 (5.6)	15 (9.0)
Urogenital	20 (8.0)	9 (5.4)
Respiratory system	9 (3.6)	16 (9.6)
Nervous system	7 (2.8)	8 (4.8)
Hepatic	4 (1.6)	8 (4.8)
Cardiovascular system	6 (2.4)	3 (1.8)
Cutaneous	4 (1.6)	3 (1.8)

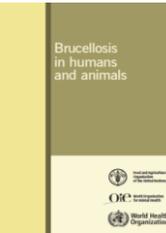
≈ 500 000 nuevos casos / año

10 - 25 veces superior / SUBREGISTRO

Afecta personas de todas las edades y sexos / grupos de personas

Puede depender de la actividad laboral y hábitos alimentarios

Ocurre en cualquier época del año



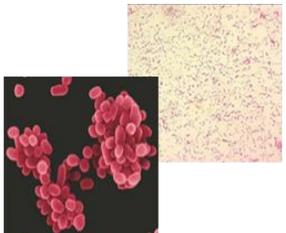
Symptoms and signs	Number of patients	%
Fever	464	93
Chills	410	82
Sweats	437	87
Aches	457	91
Lack of energy	473	95
Joint and back pain	431	86
Arthritis	202	40
Spinal tenderness	241	48
Headache	403	81
Loss of appetite	388	78
Weight loss	326	65
Constipation	234	47
Abdominal pain	225	45
Diarrhoea	34	7
Cough	122	24
Testicular pain/epididymo-orchitis	62	21*
Rash	72	14
Sleep disturbance	185	37
Ill appearance	127	25
Pallor	110	22
Lymphadenopathy	160	32
Splenomegaly	125	25
Hepatomegaly	97	19
Jaundice	6	1
Central nervous system abnormalities	20	4
Cardiac murmur	17	3
Pneumonia	7	1

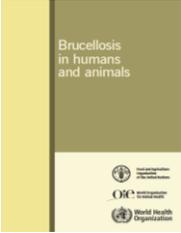
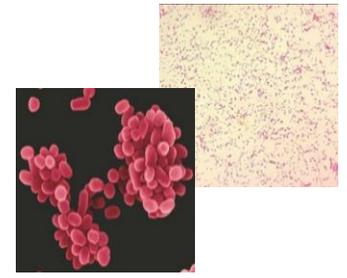
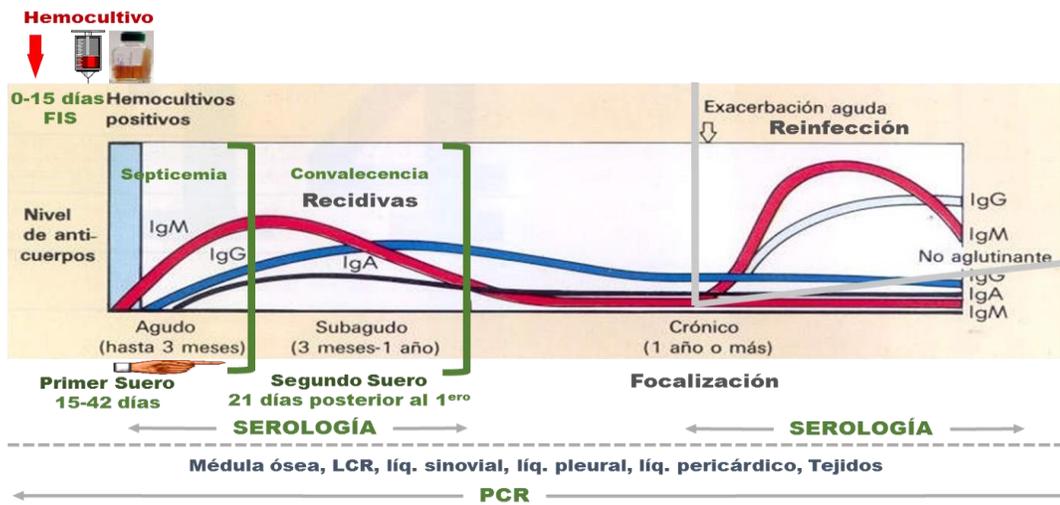
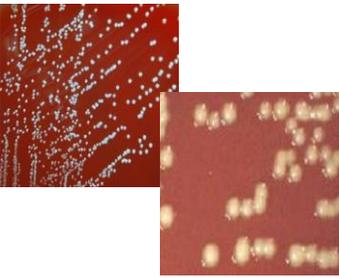
- B. melitensis* bv1-3**
- B. suis* bv1-5**
- B. canis***
- B. abortus* bv1-6,9**

- B. ceti***
- B. pinnipedialis***

- B. inopinata***

- B. abortus* S19**
- B. abortus* RB51**
- B. melitensis* Rev1**





DIAGNOSTIC TESTING

CDC/CSTE Laboratory Criteria for Diagnosis¹

Definitive

- Culture and identification of *Brucella* spp. from clinical specimens
- Evidence of a four-fold or greater rise in *Brucella* antibody titer between acute and convalescent phase serum specimens obtained greater than or equal to 2 weeks apart

Presumptive

- *Brucella* total antibody titer of greater than or equal to 1:160 by standard tube agglutination test (SAT) or *Brucella* microagglutination test (BMAT) in one or more serum specimens obtained after onset of symptoms
- Detection of *Brucella* DNA in a clinical specimen by PCR assay

TABLA 3B
SEGURIDAD BIOLÓGICA EN MICROBIOLOGÍA

Agente	NSB ¹ (BSL)		Riesgo de exposición a la muestra	Precauciones recomendadas para laboratorios de nivel A	
	Manejo de la muestra	Manejo del cultivo		NSB-2 (BSL2)	NSB-3 (BSL3)
<i>Bacillus anthracis</i>	2	2	Sangre, exudados de lesiones cutáneas, LCR, líquido pleural, esputo y raramente orina y heces	NSB-2 (BSL2): Actividades que involucren la toma de muestras clínicas y cantidades de diagnóstico de cultivos infecciosos.	NSB-3 (BSL3): Actividades con alto potencial de generación de aerosoles o pequeñas gotas.
<i>Brucella</i> spp.	2	3	Sangre, médula ósea, LCR, tejido, semen y ocasionalmente orina.	NSB-2 (BSL2): Las actividades están involucradas a la obtención, transporte y siembra de materiales clínicos.	NSB-3 (BSL3): Todas las actividades que involucren manipulación de cultivos.

1. La brucelosis adquirida en laboratorio se ha presentado a través de la inhalación de cultivos, generación de aerosoles por centrifugación, "pipeteo" con la boca, inoculación parenteral accidental y administración directa a ojos, nariz y boca; finalmente también se ha presentado por contacto directo con muestras clínicas.

85 % F. aguda
≤ 65 % E. tardía

Evidence in support of the diagnosis includes:

- Isolation of *Brucella* spp. from the patient.
- Demonstration by validated polymerase chain reaction (PCR) of the presence of *Brucella* genetic material in blood or other tissue sample.
- Demonstration by a validated serological method of *Brucella* antigen in blood or other tissue sample.
- Demonstration of a rising antibody titre in any serological test for brucellosis in the absence of exposure to any known source of cross-reacting antigens.
- Demonstration of a high sustained IgG antibody titre in the agglutination, complement fixation or ELISA tests with standardized antigens.

Rosa Bengala SAT

- FAB Cualitativo
- FAB Semicuantitativo

Prueba de Coombs

- Brucellacapt

2ME

- ELISA IgM
- ELISA IgG



A diferencia del cultivo, NO existe una prueba "confirmatoria"
¡¡Rol fundamental es la EVALUACIÓN CLÍNICA!!

PAUTAS DIAGNÓSTICAS...

- 1- CLÍNICA COMPATIBLE
- 2- ANAMNESIS CORRECTA...**RELEVANCIA EPIDEMIOLÓGICA**
- 3- DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO...**PUNTOS CRÍTICOS**

**PRUEBAS DE LABORATORIO RECOMENDABLES
INTERPRETACIÓN E INFORMACIÓN QUE PROPORCIONAN**

Cultivo...Siempre que sea posible

Serología...Pareada "evaluar seroconversión"

- 1- Resultado +, **CON** Signos / Síntomas: considerar infección
- 2- Resultado + "persistente", **SIN** Signos / Síntomas: considerar curación
- 3- Resultado ±, **SIN** Signos / Síntomas: difícil determinar...reacción cruzada
- 4- Resultado ±, **CON** Signos / Síntomas: posible infección
- 5- Resultado -, **CON** Signos / Síntomas: posible infección x *B. canis*, *B. abortus* RB51...**PCR**

PCR...Casos controvertidos

Otras muestras clínicas: sangre, médula ósea, LA, LP, LPC, LCR, tejidos

- 1- Resultado +, **CON** Signos / Síntomas: considerar infección
- 2- Resultado +, **SIN** Signos / Síntomas: considerar curación

4- SEQUIMIENTO DEL PACIENTE...**PREVER RECAÍDAS (3M, 6m, 1A)**

5- TRATAMIENTO OPORTUNO

B. abortus RB51...**R**...Rifampicina
B. melitensis Rev1...**R**...Estreptomycinina

ÁREAS ENDÉMICAS

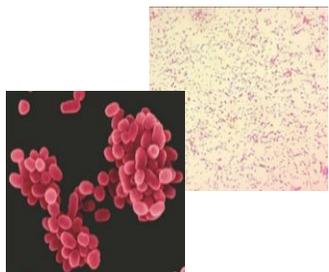
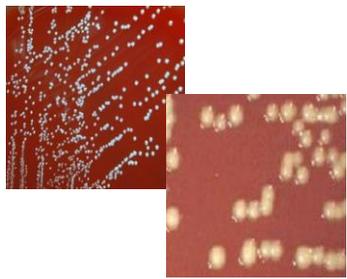


ESPECIFICIDAD

RETRASO DIAGNÓSTICO / TRATAMIENTO


PROBABILIDAD

- 1- FORMAS FOCALES / COMPLICACIONES
- 2- EVOLUCIÓN POCO FAVORABLE...**FALLO TERAPÉUTICO**
RECAÍDAS
MORTALIDAD



2011



PRUEBAS SEROLÓGICAS

FAB vs BRUCELLACAPT

Tabla 3. Indicadores de desempeño del sistema comercial FAB, para el diagnóstico de la brucelosis humana

Parámetros	Valor (%)	IC (95%)
Sensibilidad	100,00	98,75-100,00
Especificidad	97,50	93,45-100,00
Valor predictivo +	95,24	87,61-100,00
Valor predictivo -	100,00	99,36-100,00
Índice de Youden	0,98	0,94-1,01
RV +	40,00	10,18-157,17
RV -	-	-

Tabla 1. Resultados de la microtécnica de FAB en sueros controles

Sueros controles (código)	Título por FAB comercial (Tubo)	Título por microtécnica (placa de poliestireno)			Coincidencia (%)
		Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	
108	20	20	20	20	100 %
60	40	40	40	40	100 %
18	80	80	80	80	100 %
40	160	160	160	160	100 %
126	320	320	320	320	100 %
86	NR	NR	NR	NR	100 %
87	NR	NR	NR	NR	100 %

Fuente: Registros del LNRB del IPK. Leyenda: NR: no reactivo; %, porcentaje

1. Evaluación del sistema serológico comercial Brucellacapt®

	Valor	IC (95%)	
Sensibilidad (%)	100.00	99.00	100.00
Especificidad (%)	83.00	75.14	90.86
Índice de validez (%)	88.67	83.26	94.07
Valor predictivo + (%)	74.63	63.46	85.79
Valor predictivo - (%)	100.00	99.40	100.00
Prevalencia (%)	33.33	25.46	41.21
Índice de Youden	0.83	0.76	0.90
Razón de verosimilitud +	5.88	3.81	9.07

Coincidencia Brucellacapt® vs ELISA IgM y ELISA IgG
 Grupo I : 50/50 (100%)
 Grupo II: 83/100 (83%)

Tabla 1. Resultados serológicos en muestras de casos sospechosos FAB vs Brucellacapt – Confirmación por ELISA IgM e IgG

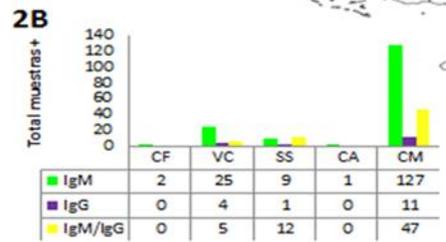
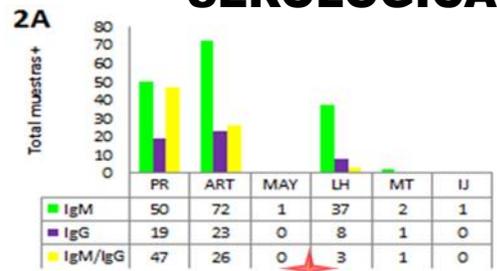
1 591	Total	533	196	314	333	155	32	17	5	5	1	POSITIVO			DUDOSO	
Total	BC/FAB	NR	20	40	80	160	320	640	1 280	2 560	5 120	IgM	IgG	IgM+IgG	IgM	IgG
561	NR	469	45	34	10	3									22	2
299	40	52	94	94	47	12						53	11	1		
294	80	12	39	112	111	18	2					100	23	3	41	
210	160		15	62	92	38	3					86	27	21	15	2
101	320		3	12	50	32	4					46	16	24	7	2
62	640				19	36	6					16	12	26	3	
29	1 280				4	10	9					3	7	18		2
8	2 560					4	3					1		7		
11	5 120					2	4					1	2	8		
2	10 240					1	1							2		
2	20 480													2		
2	40 960													2		
7	81 920													7		
2	327 680													2		
1	1 310 720													1		
		IgM	12	34	85	120	47	6	1							
		IgG	4	13	37	26	13	4	2							
		IgM+IgG		3	12	38	29	17	14	5	5	1				
POSITIVO		IgM	3	13	26	35	9	3	1							
DUDOSO		IgG	1	1	2	2										90
																6

Annotations: Falsos Positivos (circled), Cuantifica Ac no aglutinantes 68% (arrow), Detección diferentes tipos Ig (arrow), 45% Exactitud 44% Superioridad (circled), 51% (circled), 90% (circled).

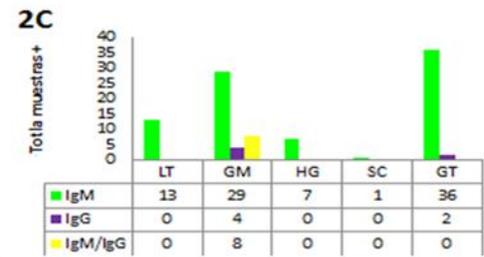
2011

LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA

PRUEBAS SEROLÓGICAS



ELISAs



PRUEBAS AMBIENTALES

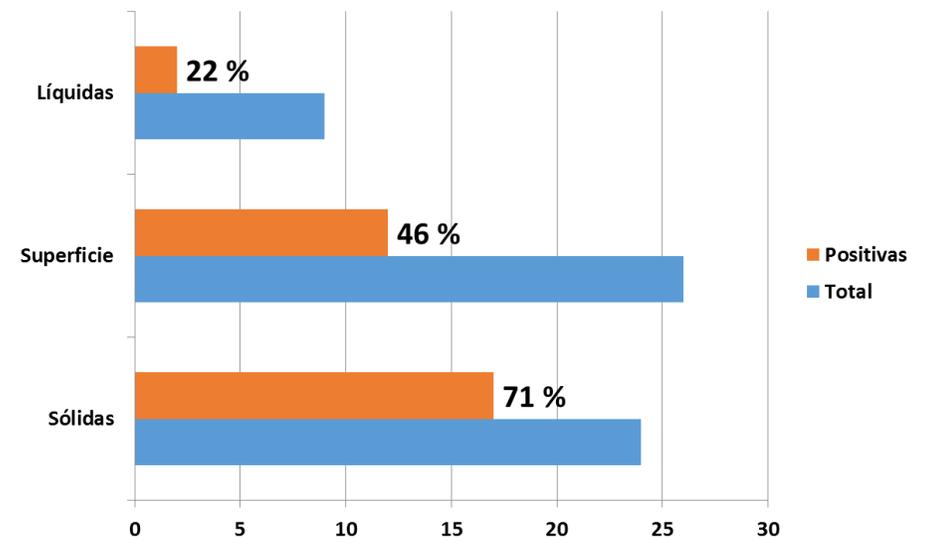


Fig 2. Resultados de positividad en las muestras sólidas, de superficies y líquidas, por el sistema inmunocromatográfico directo de flujo lateral para *Brucella* spp.

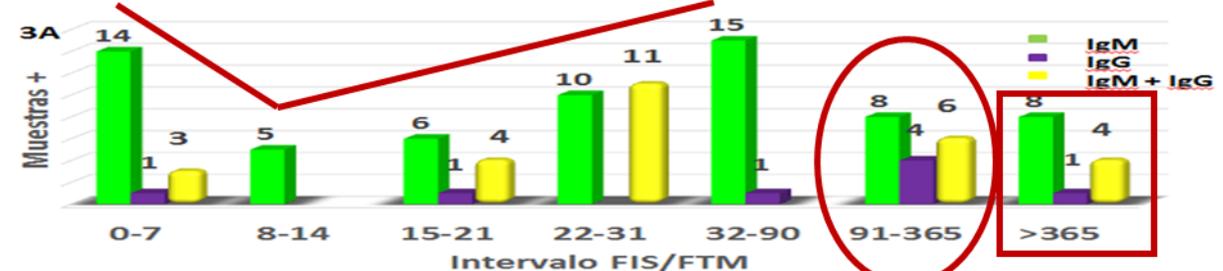


Figura 3. Distribución de muestras positivas a IgM, IgG o IgM+IgG de los casos con brucelosis, según intervalo de tiempo entre FIS y FTM (sección 3A)

2011

LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA

PRUEBAS MOLECULARES

PCR convencional
Gen PME BCSP 31 KDa
presente en *Brucella* spp.

↑ % de casos sospechosos
negativos por ELISAs IgM e IgG

ALIMENTOS
Queso artesanal
75 % (3/4)

PCR-RT
Gen *wbo* presente en
Brucella spp.

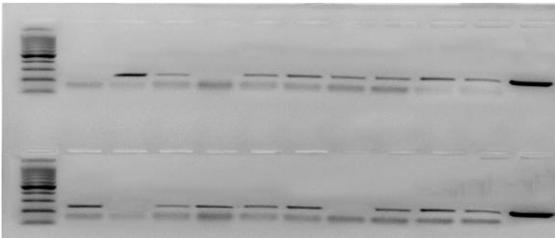
Persistencia de casos sospechosos
negativos por ELISAs IgM e IgG y
PCR BCSP

B. canis en un líq. pleural de humano
B. abortus en un suero de humano
B. canis en un testículo de canino

mPCR Brucelader
Diferenciación de 10 especies
y 3 cepas vacunales de *Brucella* spp.

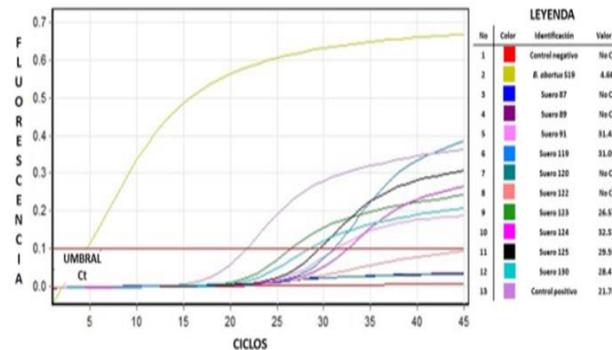
Desconocimiento de las
especies de *Brucella* circulantes

Parámetros	Valor (%)	IC (95%)
Sensibilidad	96,25 (77/80)	91,46-100,00
Especificidad	100	99,69-100,00

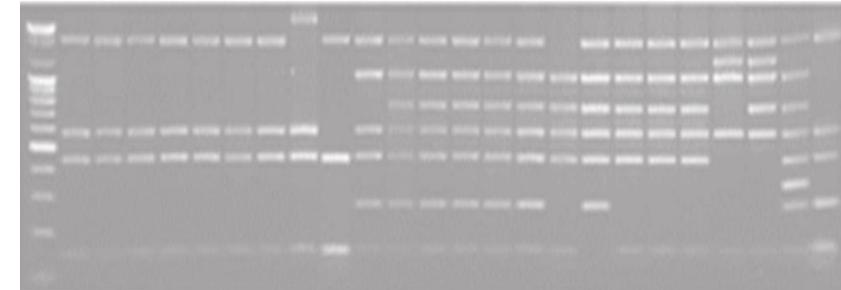


Aplicación: 48 % (167 / 350)

Brucella Real-TM
Sacace
BIOTECHNOLOGIES



Aplicación: 63 % (26 / 41)



Se identifica:

- Cepa vacunal *B. abortus* RB51 en un suero de humano
- Cepa vacunal *B. abortus* S19 y *B. abortus* en órganos de bovinos*



PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

**"Validación e implementación de un biosensor para la
pesquisa (a partir de muestras clínicas) de brucelosis
humana en Cuba con enfoque de una salud
(2025-2028)"**

**"Nuevos retos en la microbiología del género *Brucella*,
con énfasis en los métodos bacteriológicos para su
aislamiento, identificación, tipificación y conservación
(2025-2028)"**



La brucelosis no es un problema científico



La brucelosis es un problema político y de intereses económicos

