

Avances en el diagnóstico de laboratorio de la brucelosis humana: una revisión sistemática de métodos serológicos y moleculares

Laboratory diagnostic advances of human brucellosis: a systematic review of molecular and serological test

Ruth Nathaly Zamora Pujos*
Universidad Nacional de Chimborazo
Riobamba - Ecuador
ruth.zamora@unach.edu.ec
<https://orcid.org/0009-0007-4778-5553>

Maria del Carmen Cordovéz Martínez
Universidad Nacional de Chimborazo
Riobamba - Ecuador
mcordovez@unach.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0001-7155-8499>

***Correspondencia:**
ruth.zamora@unach.edu.ec

Cómo citar este artículo:
Zamora, R., & Cordovéz, M. (2025). Avances en el diagnóstico de laboratorio de la brucelosis humana: una revisión sistemática de métodos serológicos y moleculares. *Esprint Investigación*, 4(3), 234-247. <https://doi.org/10.61347/ei.v4i3.213>

Recibido: 28 de octubre de 2025
Aceptado: 2 de diciembre de 2025
Publicado: 8 de diciembre de 2025

Resumen: La brucelosis humana representa un problema sanitario relevante que demanda diagnósticos precisos. Este estudio evaluó métodos serológicos y moleculares para determinar avances en diagnóstico de *Brucella* y la aplicabilidad clínica mediante la revisión de artículos científicos publicados entre el 2020 y 2025 en bases de datos científicas indexadas (PubMed, ScienceDirect, Scopus). Se revisaron 133 artículos siguiendo criterios específicos, de los cuales se seleccionaron 25 artículos, agrupándolos según pruebas de referencia empleadas. Las técnicas moleculares, principalmente PCR y sus variantes, mostraron elevada sensibilidad (hasta 85-90%) y especificidad, superando a técnicas serológicas tradicionales como Rosa de Bengala, que, aunque más accesibles, presentan limitaciones en ciertos casos. La mayoría de los estudios fueron prospectivos y reflejan disparidad regional en los métodos de diagnóstico usados. Los resultados indican que la integración de procedimientos basados en serología y análisis genéticos mejora la precisión diagnóstica, especialmente en infecciones con baja carga bacteriana o formas clínicas atípicas. La evidencia apoya la transición hacia técnicas moleculares para laboratorios clínicos de nivel II y III. Se concluye que la adopción coordinada de estas tecnologías y el desarrollo de protocolos estandarizados son esenciales para optimizar la detección y vigilancia epidemiológica de la brucelosis humana, y se resalta la importancia de combinar estos protocolos de análisis para mejorar la detección de la bacteria, particularmente en casos negativos en serología pero positivos mediante PCR y en la identificación específica de especies de *Brucella*.

Palabras clave: Brucelosis humana, diagnóstico molecular, pruebas serológicas, revisión sistemática.

Abstract: Human brucellosis represents a significant health problem that demands accurate diagnoses. This study evaluated serological and molecular methods to determine advances in *Brucella* diagnosis, and clinical applicability by reviewing scientific articles published between 2020 and 2025 in indexed scientific databases (PubMed, ScienceDirect, Scopus). A total of 133 articles were reviewed according to specific criteria, from which 25 articles were selected and grouped according to the reference tests used. Molecular techniques, primarily PCR and its variants, showed high sensitivity (up to 85–90%) and specificity, surpassing traditional serological techniques such as Rose Bengal, which, although more accessible, have limitations in certain cases. Most studies were prospective and reflect regional disparities in the diagnostic methods used. The results indicate that integrating serology-based procedures with genetic analyses improves diagnostic accuracy, especially in infections with low bacterial loads or atypical clinical forms. The evidence supports the transition to molecular techniques for level II and III clinical laboratories. It is concluded that the coordinated adoption of these technologies and the development of standardized protocols are essential to optimize the detection and epidemiological surveillance of human brucellosis, and the importance of combining these analytical protocols to improve the detection of the bacteria is highlighted, particularly in negative cases in serology but positive by PCR and in the specific identification of *Brucella* species.

Keywords: Human brucellosis, molecular diagnosis, serological test, systematic review.

Copyright: Derechos de autor 2025 Ruth Nathaly Zamora Pujos, Maria del Carmen Cordovéz Martínez.



Esta obra está bajo una licencia internacional Creative Commons Atribución-NonComercial 4.0.

1. Introducción

La brucelosis es una enfermedad infecciosa reemergente causada por cocobacilos gramnegativos intracelulares facultativos del género *Brucella*. Es considerada una de las siete zoonosis endémicas desatendidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS), incluida dentro de la lista B de enfermedades animales por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA) y reconocida como una infección de gran importancia socioeconómica por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), es prevalente en todo el mundo con un carácter endémico observado en países mediterráneos de Europa, Asia, África, América y el Caribe (Corbel, 2006).

Se estima que aproximadamente 3,5 mil millones de personas a nivel mundial tienen el riesgo permanente de adquirir brucelosis (Bosilkovski et al., 2021); debido a ello, esta enfermedad tiene importantes implicaciones para la salud pública y genera graves desafíos económicos, especialmente en regiones con medidas de seguridad alimentaria, normas de higiene y atención veterinaria inadecuadas. Esto se debe a que la transmisión a los humanos ocurre mediante la ingestión de productos de origen animal contaminados o el contacto directo con animales infectados (Qureshi et al., 2024). Estas rutas de exposición ponen en mayor riesgo a consumidores de lácteos no pasteurizados, propietarios de ganado, trabajadores de mataderos y veterinarios dentro de zonas endémicas (Corbel, 2006).

Además, las mediciones precisas de la carga de la enfermedad se ven limitadas por un número considerable de casos asintomáticos, dificultades para llegar a un diagnóstico definitivo y la falta de notificación. Por esta razón, se estima un riesgo global aproximado de 500 nuevos casos por cada millón de personas, siendo África la región con mayor riesgo, seguida de Asia y otras regiones del mundo (Laine et al., 2023).

Dado que los síntomas clínicos de esta infección son inespecíficos y pueden confundirse con otras patologías, el diagnóstico clínico resulta poco confiable. Sin embargo, en los últimos años se han desarrollado avances significativos que han permitido comprender mejor la fisiopatología de la enfermedad y mejorar los métodos diagnósticos (Di Bonaventura et al., 2021). Dentro de estos avances, se ha identificado la presencia de huéspedes intermedios que contribuyen a la difusión de la infección.

Las especies de *Brucella* más virulentas son: *Brucella melitensis* (ovejas y cabras), *Brucella abortus* (ganado vacuno) y *Brucella suis* (cerdos), otras especies menos virulentas son *Brucella canis* (perros), así como especies emergentes como *Brucella amazoniensis* (collar/labios blancos), *Brucella nosferati* (murciélagos), *Brucella inopinata* y *Brucella microti* (ranas, sapos, reptiles y peces) (Lavigne et al., 2025). *Brucella ceti* y *Brucella pinnipedialis* (mamíferos marinos) (Centers for Disease Control and Prevention, 2017).

Esta patología presenta formas agudas, subagudas, localizadas y crónicas, y puede causar síntomas clínicos duraderos y complicaciones focales. Aun con tratamiento, las tasas de recaída oscilan entre el 6 % y el 11 %. Debido a la heterogeneidad e inespecificidad de los síntomas, la detección temprana presenta múltiples desafíos, especialmente en centros de atención médica y laboratorios en entornos de bajos recursos (Lukambagire et al., 2021). El aislamiento del microorganismo se considera el estándar de oro para el diagnóstico de esta infección en humanos, dado que proporciona un resultado definitivo; no obstante, presenta desventajas importantes, como el tiempo requerido, la complejidad en la obtención, manejo, almacenamiento y transporte de las muestras, la necesidad de personal especializado y laboratorios de alta contención (bioseguridad nivel 3), además de un prolongado periodo de respuesta (Wormser & Stratton, 2008). Los métodos alternativos utilizados para su pronóstico en humanos son los ensayos serológicos, como la prueba de placa de Rosa de Bengala (RBT), las pruebas de aglutinación sérica (STAT), la prueba de fijación del complemento, el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas y

las pruebas de precipitación en gel, y técnicas de biología molecular como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Waringa et al., 2023).

Si bien las pruebas moleculares pueden usarse como métodos directos de diagnóstico, se ha reportado que las técnicas de PCR permiten analizar solo pequeños volúmenes de muestra en comparación con el cultivo del microorganismo. Sin embargo, las pruebas basadas en PCR son particularmente útiles en zonas de alta endemidad. Por otro lado, los procedimientos basados en serología se utilizan como confirmación de los cultivos de *Brucella* y, aunque la respuesta específica de anticuerpos puede proporcionar información diagnóstica útil, se han documentado reacciones cruzadas con anticuerpos dirigidos contra *F. tularensis*, *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolitica* y *Afipia clevelandensis*. Además, estas pruebas no suelen emplearse como única herramienta diagnóstica (Wormser & Stratton, 2008). Con lo anterior, actualmente no existe un consenso claro sobre cuál es la técnica más eficaz, accesible y adecuada para confirmar la brucelosis humana en diferentes contextos epidemiológicos, lo que genera incertidumbre en la toma de decisiones clínicas.

Por consiguiente, el presente estudio buscó evaluar sistemáticamente las pruebas serológicas y moleculares aplicadas al diagnóstico de la brucelosis humana publicadas en bases de datos indexadas (PubMed, ScienceDirect, Scopus) entre enero de 2020 y septiembre de 2025, mediante una revisión bibliográfica de al menos 25 artículos científicos, con el fin de caracterizar su distribución geográfica, las pruebas de referencia empleadas, los avances tecnológicos y la capacidad de identificación de especies de *Brucella*.

Para ello, los objetivos específicos incluyeron: caracterizar la distribución geográfica de las investigaciones y las pruebas de referencia utilizadas en diferentes regiones, identificar y clasificar los métodos serológicos y técnicas moleculares, describir los avances tecnológicos en el desarrollo de métodos diagnósticos, analizar las características de los estudios incluidos según el diseño de investigación, tamaño de muestra y pruebas de referencia empleadas, identificar las especies de *Brucella* y sintetizar las principales limitaciones metodológicas.

2. Metodología

Esta revisión sistemática se adhirió a las directrices de los Elementos de Informe Preferidos para Revisiones Sistemáticas y Metaanálisis (PRISMA), con el fin de garantizar la calidad de los métodos empleados en la identificación, selección, evaluación y síntesis de los estudios (Page et al., 2021). Este estudio tuvo un enfoque descriptivo basado en síntesis cualitativa de estudios cuantitativos, diseño no experimental de corte longitudinal. La pregunta de investigación se formuló como una guía para la revisión sistemática: ¿Cuáles son las características metodológicas, distribución geográfica y avances tecnológicos de los métodos serológicos y moleculares utilizados para el diagnóstico de la brucelosis humana en la literatura reciente, y qué especies de *Brucella* se identificaron mediante estos métodos?

El proceso de selección de los artículos se realizó siguiendo el modelo PICOS (Población, Intervención, Comparación, Resultados y Estudios/marco temporal), con los siguientes criterios de inclusión:

- **P (Población):** Pacientes evaluados para diagnóstico de brucelosis humana en diferentes contextos geográficos.
- **I (Intervención):** Cualquier prueba diagnóstica de especies del género *Brucella* (prueba índice).
- **C (Comparación):** Pruebas de referencia (microbiológicas, serológicas y moleculares) para detectar especies causantes de Brucelosis humana.
- **R (Resultado):** Distribución geográfica, tipos de métodos diagnósticos, pruebas de referencia,

identificación de especies de *Brucella*, diseño metodológico de los estudios, tamaño de muestra y casos positivos, avances tecnológicos y limitaciones metodológicas como resultados primarios.

- **S (Estudios):** Estudios originales centrados en la precisión diagnóstica.

Criterios de inclusión y exclusión

Los criterios de exclusión se establecieron para estudios que carecían de información esencial sobre la prueba índice o el estándar de referencia diagnóstica, estudios fuera del periodo 2020 - 2025; y, estudios en general que no se refirieron a la detección de especies causantes de Brucelosis humana. Además, se excluyeron artículos de revisión sistemática, documentos de conferencias, libros y capítulos de libros, revisiones de conferencias, cartas al editor, notas, estudios retractados, artículos sin acceso a texto completo y estudios sin resultados publicados.

Por otro lado, los criterios de inclusión se definieron como: artículos publicados desde enero de 2020 hasta septiembre 2025, que abordaron el uso de pruebas serológicas y moleculares para la detección de especies del género *Brucella* y que contaron con una prueba estándar de referencia para el aislamiento del microorganismo.

Estrategia de búsqueda y procesos de selección

Se realizaron búsquedas sistemáticas de literatura en tres bases de datos: PubMed, ScienceDirect y Scopus. Para cada base de datos, las palabras clave relacionadas con la brucelosis humana, pruebas serológicas, diagnóstico molecular se combinaron con operadores booleanos (AND, OR). Se incluyeron artículos publicados entre enero 2020 y septiembre 2025, sin restricciones en las fechas de publicación. También se realizaron búsquedas adicionales en las listas de referencia de los artículos incluidos.

Tabla 1

Operadores booleanos.

Base de datos	Estrategia de búsqueda	Estudios
Pubmed	("brucellosis" OR "human brucellosis") AND ("serological tests" OR serology OR "ELISA" OR "Rose Bengal") AND ("molecular tests" OR PCR OR "polymerase chain reaction") AND (diagnosis OR diagnostic OR detection) Filters: in the last 5 years, Free full text, Full text	92
Scopus	TITLE ("human brucellosis") AND ("serological tests" OR "serology") AND ("molecular tests" OR "PCR") AND ("diagnosis") AND PUBYEAR > 2019 AND PUBYEAR < 2026 AND (LIMIT-TO (OA , "all")) AND (EXCLUDE (DOCTYPE , "le") OR EXCLUDE (DOCTYPE , "tb") OR EXCLUDE (DOCTYPE , "re"))	25
ScienceDirect	("Human Brucellosis") AND ("serological" OR "molecular diagnosis") AND ("assay" OR "test" or "diagnosis") Year 2020-2025	16
TOTAL		133

Para el proceso de selección, los registros obtenidos de cada base de datos se importaron a Mendeley Reference Management para identificar, y eliminar archivos duplicados, y posteriormente, se leyeron los textos completos seleccionados para confirmar su elegibilidad, se extrajeron datos pertinentes y se verificó que se aplicaran los criterios de exclusión.

Extracción de datos

En lo que respecta a la extracción de datos, se reconoció al aislamiento del microorganismo como el estándar de referencia. Sin embargo, dado que el cultivo de la bacteria fue considerado como una

prueba de referencia imperfecta también se consideró como prueba estándar la prueba de seroaglutinación (SAT), la Prueba Rosa de Bengala, ELISA y el serodiagnóstico de Wright.

Con base en ello, se extrajeron de todos los artículos las principales características del estudio, la información relacionada con la población, intervención, el comparador y el resultado. Los datos de interés incluyeron el país donde se realizó, los métodos de diagnóstico utilizados, el número de participantes evaluados, la prueba de referencia, el diseño del estudio, las especies de *Brucella* involucradas y las características de las pruebas incluidos los fabricantes, los antígenos y los títulos utilizados para definir la positividad de la prueba.

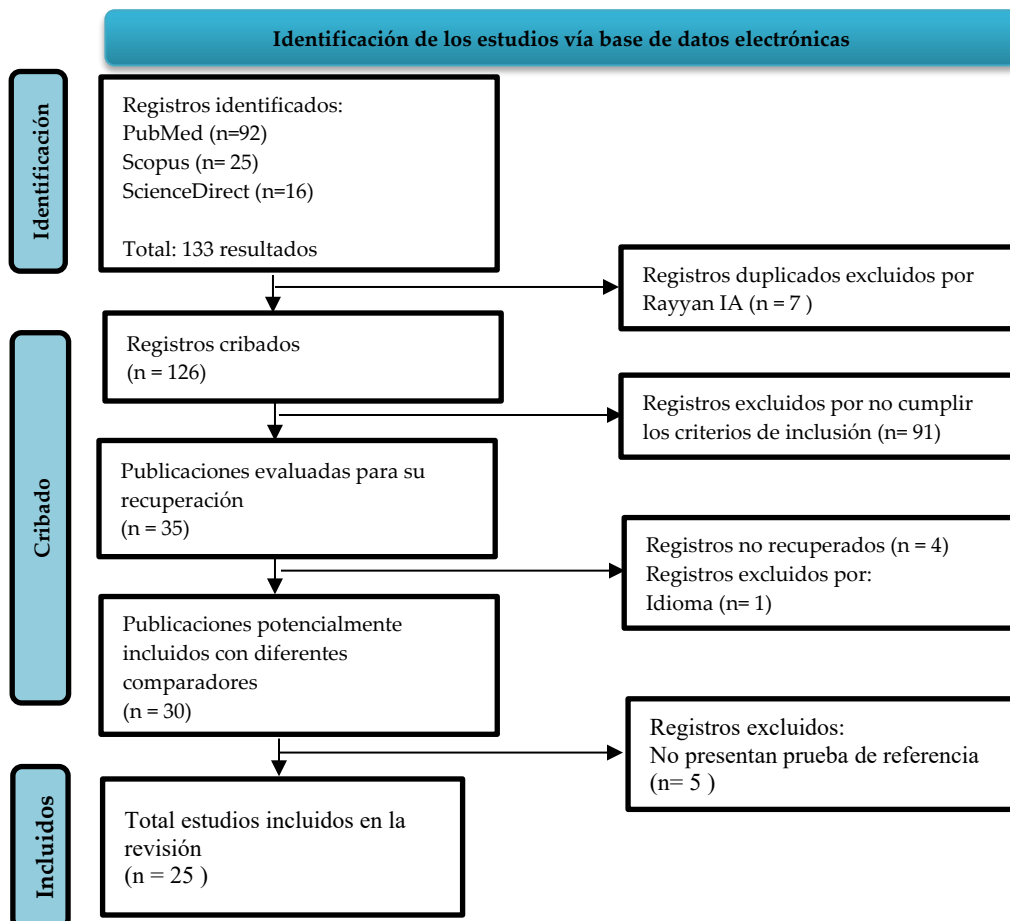
3. Resultados

Búsqueda de los artículos

En la búsqueda inicial se identificaron 133 artículos en las bases de datos, seguidos de un análisis y selección basados en los criterios de inclusión. Con el fin de comparar los métodos diagnósticos, los estudios fueron agrupados de acuerdo con la prueba de referencia adoptada, que podía ser "aislamiento", "prueba de seroaglutinación (SAT)", "Prueba Rosa de Bengala (RBT)", "ELISA" o "serodiagnóstico de Wright". Los estudios que no presentaban una prueba de referencia fueron excluidos, resultando en un total de 25 artículos incluidos. El diagrama de flujo PRISMA sintetiza el proceso de selección de los estudios y las razones de exclusión (figura 1).

Figura 1

Diagrama de flujo sobre el proceso de selección de acuerdo con PRISMA



Análisis descriptivo y estudios incluidos

Las características de los trabajos se presentan en la Tabla 2. Como se observa, la mayoría de las investigaciones relacionadas al diagnóstico de brucelosis se desarrollaron en Asia (n=19), seguido de África (n=5) y América (n=1). Por otro lado, respecto a la prueba de referencia, esta varió entre regiones, dado que se consideraron diferentes protocolos de identificación de la bacteria. De los estudios incluidos, cuatro utilizaron el cultivo microbiano como estándar diagnóstico; cuatro emplearon el cultivo combinado con SAT (n = 1), con ELISA (n = 4) y uno con las tres técnicas. De la misma manera, diez estudios aplicaron únicamente RBT como método principal, mientras que uno utilizó RBT en conjunto con la prueba rápida *Brucella Ab de Anigen* (ARBT) y otro combinó RBT con SAT. Finalmente, dos investigaciones emplearon la prueba de Wright como referencia.

Tabla 2

Métodos serológicos y moleculares utilizados en el diagnóstico de brucelosis

Referencia	País	Prueba de referencia	Método	Tamaño de muestra (casos positivos / total)	Diseño de investigación	Especies de <i>Brucella</i> identificadas
(Liu et al., 2023)	China	RBT y SAT	1) RT-qPCR 2) dd-PCR	280/487	Retrospectivo	No reportaron
(Bhartiya et al., 2020)	India	Cultivo	1) In-house ELISA 2) Novatec ELISA	568/1142	Prospectivo	No reportaron
(Süer et al., 2023)	Turquía	Cultivo y RBT	1) RSAT 2) iELISA	8/225 10/225 12/225 22/225	Prospectivo	<i>B. canis</i> <i>B. abortus</i>
(Almuzaini et al., 2025)	Arabia Saudita	RBT y ARBT	1) I-ELISA 2) CFT 3) PCR convencional	17/100	Transversal	No reportaron
(Sharififar et al., 2023)	Irán	RBT	1) PCR	85/90	Transversal	No reportaron
(Rahbarnia et al., 2021)	Irán	Cultivo	1) SAT 2) C-SAT 3) 2ME 4) PCR anidada	73/120 66/120 60/120	Prospectivo	No reportaron
(Riyadh et al., 2022)	Iraq	RBT	1) PCR	5/100	Prospectivo	<i>B. abortus</i>
(Becker & Tuon, 2021)	Brasil	Cultivo y ELISA	1) qPCR	1/12	Prospectivo	No reportaron
(Kumari et al., 2023)	India	Cultivo y ELISA	1) qPCR	23/200	Prospectivo	<i>B. abortus</i> <i>B. melitensis</i>
(Ejaz et al., 2024)	Pakistán	RBT	1) qRT-PCR	81/91	Control de caso	No reportaron

(Yousaf et al., 2021)	Pakistán	RBT	1)qRT-PCR	37/218	Prospectivo	No reportaron
(Adabi et al., 2021)	Irán	Wright	1) PCR	63/145	Prospectivo	No reportaron
(Qasmaoui et al., 2025)	Marruecos	RBT	1) IgG e IgM ELISA	66/99	Prospectivo	No reportaron
(Munyua et al., 2021)	Kenia	RBT	1) IgG e IgM ELISA 2) PCR	22/217	Retrospectivo	No reportaron
(Shafqat et al., 2025)	Pakistán	SAT	1) iELISA 2) PCR	24/200	Transversal	<i>B. abortus</i> <i>B. melitensis</i>
(Waringa et al., 2023)	Kenia	RBT	1) FBAT 2) PCR	44/166	Transversal	<i>B. abortus</i>
(Ferjani et al., 2025)	Túnez	Cultivo	1) RT-PCR	36/36	Prospectivo	<i>B. melitensis</i>
(Almashhadany et al., 2022)	Iraq	Cultivo	1) SAT	31/325	Transversal	<i>B. melitensis</i>
(Vakili et al., 2021)	Irán	Cultivo y SAT y ELISA	1) LSPR	17/20	Prospectivo	<i>B. abortus</i> <i>B. melitensis</i>
(Jafari et al., 2024)	Irán	Wright	1) CSF PCR	7/7	Prospectivo	No reportaron
(Dong et al., 2021)	China	SAT	1) RBT 2) ELISA 3) Coombs 4) FPA	200/300	Prospectivo	<i>Brucella spp.</i>
(Lita et al., 2025)	Sudan	RBT	1) qPCR	7/143	Prospectivo	No reportaron
(Elelu et al., 2025)	Nigeria	RBT	1) qPCR	92/103	Transversal	No reportaron
(Liu et al., 2020)	China	SAT	1) MLVA	107/1460	Prospectivo	<i>B. melitensis</i>
(Akhtar et al., 2021)	Pakistán	RBT	1) PCR	122/300	Prospectivo	<i>B. melitensis</i>

Nota. SAT (prueba de seroaglutinación), RBT (Prueba Rosa de Bengala), ARBT (Prueba rápida de *Brucella* Ab de Anigen), C-SAT (Prueba de Coombs anti-*Brucella*), ELISA (ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas), Wright (prueba de Wright), RT-qPCR (reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa), dd-PCR (doble detección PCR), CFT (prueba de fijación del complemento), 2-ME (2-Mercaptoetanol), FBAT/FPA (Prueba de anticuerpos *Brucella* fluorescente), LSPR (resonancia de plasmones superficiales localizados), MLVA (Análisis de Ligación de Múltiples Loci-VNTR), NR (No reportaron).

Entre los métodos de diagnóstico reportados, 18 de los 25 artículos basaron sus investigaciones en la detección molecular de genes asociados a *Brucella spp.*, empleando PCR convencional o variaciones de esta técnica, como se muestra en la tabla. Mientras tanto, 7 de los 25 estudios utilizaron ELISA o alguna de sus variantes para la identificación de antígenos asociados al patógeno, 4 de los 25 compararon la prueba de referencia con diversos métodos serológicos como SAT, C-SAT, 2ME, Coombs y FBAT/FPA. Por otra parte, 1 de los 25 comparó la prueba de referencia con la técnica LSPR, y 1 de los 25 utilizó el Análisis de Ligación de Múltiples Loci-VNTR (MLVA).

Con respecto al tamaño total de la muestra, la tabla detalla los casos positivos para antígenos de *Brucella* y, en el caso de la detección molecular, los genes asociados a diversas especies causantes de brucelosis. En relación con el tipo de investigación, 15 fueron estudios prospectivos, 6 transversales, 2 retrospectivos y 1 estudio de casos y controles. Las especies identificadas en estas investigaciones

fueron *Brucella canis* (n = 1), *Brucella abortus* (n = 6), *Brucella melitensis* (n = 7), *Brucella spp.* (n = 1) y en 14 estudios no se reportó la clasificación de especies.

Avances tecnológicos identificados

El análisis de las 25 investigaciones mostró una transición progresiva hacia técnicas moleculares como herramienta diagnóstica principal, donde 18 de 25 artículos (72%) se basaron en detección molecular mediante PCR y sus variantes. Por lo tanto, se evidencia un avance significativo respecto a la dependencia de los métodos serológicos tradicionales.

Entre los avances moleculares destaca la implementación de PCR en tiempo real (RT-qPCR, qRT-PCR) para una detección más rápida y específica. Asimismo, se reporta la adopción de PCR digital de doble detección (dd-PCR), con mayor sensibilidad que la RT-qPCR convencional, especialmente en muestras con baja carga genómica (Liu et al., 2023). Además, se empleó PCR anidada para mejorar la detección en casos con baja carga bacteriana (Rahbarnia et al., 2021), así como el desarrollo de PCR a partir de líquido cefalorraquídeo para el diagnóstico de *neurobrucellosis* en pacientes seronegativos (Jafari et al., 2024).

En cuanto a tecnologías emergentes, se identificaron biosensores basados en resonancia de plasmones superficiales localizados (LSPR) para detección rápida (Vakili et al., 2021), y el análisis de Ligación de Múltiples Loci-VNTR (MLVA) para la caracterización molecular epidemiológica y el rastreo de cepas circulantes (Liu et al., 2020).

Los métodos serológicos continúan teniendo utilidad clínica gracias a innovaciones significativas, entre las cuales destacan: la implementación de ensayos ELISA “in-house” con antígenos de célula completa (Bhartiya et al., 2020), ensayos de inmunoadsorción indirecta (iELISA) para la detección de IgG e IgM específicas, y pruebas de anticuerpos fluorescentes (FBAT/FPA) para mejorar la detección rápida (Dong et al., 2021).

A pesar de estos avances, se observó que más de la mitad de los estudios (n = 14) no reportaron la identificación específica de especies de *Brucella*, lo cual limita de manera importante la vigilancia epidemiológica molecular. Aquellos estudios que sí realizaron identificación emplearon predominantemente técnicas moleculares, detectando principalmente *B. melitensis* (28%) y *B. abortus* (24%), además de documentar la aparición emergente de *B. canis* en entornos urbanos (Süer et al., 2023).

Por otra parte, la notable heterogeneidad en la selección de las pruebas de referencia evidencia la ausencia de un consenso internacional, lo cual se refleja en el uso preferencial de RBT como estándar en el 48% de las investigaciones, frente a solo el 16% que empleó el cultivo microbiano de forma exclusiva. Esto subraya las dificultades prácticas asociadas al aislamiento bacteriano como método de referencia definitivo.

4. Discusión

En la presente revisión sistemática se evidencia el avance en el diagnóstico de la brucelosis humana, particularmente a través de la utilización de métodos serológicos y técnicas moleculares de mayor sensibilidad y especificidad. Para ello se analizaron 25 estudios publicados entre 2020 y 2025, en los cuales se refleja la heterogeneidad metodológica que caracteriza la práctica diagnóstica internacional. Los resultados obtenidos indican no solo la evolución tecnológica en este campo, sino también las disparidades regionales en el acceso a herramientas diagnósticas y los desafíos persistentes para la estandarización de protocolos.

Se halló un predominio notable de investigaciones realizadas en Asia, África y América, lo cual coincide con la distribución geográfica de la enfermedad considerada endémica, revelando así las prioridades de investigación en salud pública de cada región. Se destacan particularmente países como Irán, Pakistán y China, donde se concentra la mayor cantidad de estudios, lo que sugiere una elevada carga epidemiológica y un fortalecimiento de sus capacidades de investigación en los últimos años. En el caso de América Latina se identificó un único estudio proveniente de Brasil, lo que podría indicar una menor incidencia regional, pero también evidencia una brecha importante en investigación que podría explicarse por la subnotificación de casos, recursos limitados para un diagnóstico preciso o la priorización de otras enfermedades en las agendas de salud pública. Aunque América presenta menor riesgo general, existe una variación subregional más marcada que en Asia o África: Centroamérica presenta el mayor riesgo, seguida de Sudamérica y finalmente Norteamérica (Laine et al., 2023).

En cuanto a la selección de pruebas de referencia, los estudios analizados mostraron una marcada variabilidad. Solo un 16% empleó exclusivamente el aislamiento bacteriano mediante cultivo, mientras que otro 16% combinó el cultivo con pruebas serológicas como SAT o ELISA. Las limitaciones propias del cultivo de *Brucella*, como su baja sensibilidad (15–70%), el prolongado tiempo de incubación, los riesgos de bioseguridad y la dependencia de la fase de la enfermedad para su positividad, lo convierten en un método poco adecuado para el diagnóstico oportuno (Lavigne et al., 2025).

Por otra parte, la adopción de la Prueba Rosa de Bengala (RBT) como referencia se observó en el 48% de las investigaciones, ya sea de forma individual o combinada. Aunque la RBT es valorada por su simplicidad, rapidez y bajo costo, su sensibilidad puede verse afectada en casos crónicos o en fases tempranas de infección, además de presentar riesgo de reacciones cruzadas con patógenos como *Francisella tularensis* o *Yersinia enterocolitica*, comprometiendo así su especificidad (Wormser & Stratton, 2008; Waringa et al., 2023).

Respecto a los métodos diagnósticos evaluados, el análisis temporal revela un claro avance hacia el uso de técnicas moleculares como herramientas primarias. El 72% de los estudios utilizaron alguna variante de PCR, incluyendo qPCR, RT-qPCR, dd-PCR y PCR anidada. Estas técnicas han demostrado elevada sensibilidad y especificidad, particularmente en casos con baja carga bacteriana o formas localizadas donde la serología puede resultar negativa, como sucede en la meningitis por *Brucella* (Jafari et al., 2024). Por ejemplo, Liu et al. (2023) demostraron que la dd-PCR superó en sensibilidad a la RT-qPCR en la detección de casos humanos, especialmente en muestras con baja carga genómica.

Por otro lado, la persistencia de métodos serológicos, con un 28% de estudios que utilizaron ELISA o sus variantes, subraya que estas técnicas mantienen relevancia clínica, particularmente para estudios seroepidemiológicos, casos crónicos y contextos con limitada infraestructura molecular (Qasmaoui et al., 2025). Aunque resultan útiles para el cribado poblacional, presentan limitaciones para distinguir entre infección activa y exposición previa, así como para detectar infecciones por especies como *Brucella canis*, que no siempre reaccionan frente a antígenos convencionales (Süer et al., 2023).

Cabe destacar la aparición de tecnologías innovadoras como la resonancia de plasmones superficiales localizados (LSPR), utilizada por Vakili et al. (2021), y el análisis MLVA (Liu et al., 2020), que, si bien no se aplican rutinariamente en el diagnóstico clínico, representan un avance significativo en epidemiología molecular, permitiendo el rastreo de transmisión, la identificación de brotes y la caracterización genética de cepas circulantes.

El 56% de los estudios no identificó la especie de *Brucella* causante de la infección, lo que limita de forma importante la vigilancia epidemiológica molecular, considerando que las especies presentan factores de virulencia, manifestaciones clínicas y patrones de transmisión particulares. Las especies

reportadas fueron principalmente *Brucella melitensis* y *Brucella abortus*, reconocidas como las principales causas de brucelosis humana a nivel global (Laine et al., 2022). El estudio de Süer et al. (2023) destacó la presencia emergente de *Brucella canis* en Chipre del Norte, señalando su relevancia como especie zoonótica emergente, especialmente en contextos urbanos.

En cuanto a los diseños de investigación, la predominancia de estudios prospectivos sugiere una mejora en la calidad metodológica, permitiendo evaluaciones más rigurosas del rendimiento de las pruebas diagnósticas en condiciones reales. Sin embargo, varios trabajos presentaron limitaciones, entre ellas: tamaños de muestra reducidos (en algunos casos <50 participantes), ausencia de cálculos justificativos de tamaño muestral, falta de análisis de subgrupos por fase de enfermedad y descripciones clínicas insuficientes. Estas limitaciones refuerzan la necesidad de estudios multicéntricos con metodologías estandarizadas que permitan metaanálisis robustos.

A pesar de los avances documentados, persisten desafíos significativos en el diagnóstico de brucelosis humana. La falta de consenso sobre el método más adecuado según el contexto clínico y epidemiológico dificulta la comparabilidad de estudios y la aplicación de guías diagnósticas universales. Aunque la Organización Mundial de Sanidad Animal ha propuesto algoritmos diagnósticos combinando métodos directos e indirectos, su adopción aún es limitada (Corbel, 2006).

Debe considerarse también el fenómeno de seronegatividad en casos confirmados por PCR, como se evidenció en Jafari et al. (2024) en pacientes con meningitis por *Brucella*. Este hallazgo demuestra las limitaciones de basar el diagnóstico únicamente en pruebas serológicas, especialmente en presentaciones atípicas o pacientes inmunocomprometidos. Esto refuerza la necesidad de enfoques diagnósticos multimodales que integren hallazgos clínicos, epidemiológicos, serológicos y moleculares.

Futuras investigaciones deberían enfocarse en:

- (1) el desarrollo y validación de ensayos multiplex que permitan simultáneamente la detección del patógeno y la identificación de especies;
- (2) la implementación de tecnologías de secuenciación de nueva generación para la caracterización genómica diagnóstica y epidemiológica;
- (3) el desarrollo de biomarcadores del huésped que complementen la detección directa del patógeno;
- (4) evaluaciones económicas comparativas de estrategias diagnósticas que consideren costos directos y desenlaces clínicos; y
- (5) el establecimiento de redes internacionales de laboratorios de referencia para la estandarización de métodos y el control de calidad (Sharififar et al., 2023).

5. Conclusiones

La revisión sistemática realizada identificó una amplia diversidad de métodos de diagnóstico empleados en la detección de brucelosis humana, que incluyen técnicas serológicas como RBT, SAT, ELISA, CFT, Coombs, Wright y FPA, así como métodos moleculares como PCR convencional, RT-qPCR, qRT-PCR, dd-PCR, PCR anidada y MLVA. Además, se identificaron tecnologías emergentes basadas en nanotecnología, como los biosensores LSPR. En conjunto, los resultados evidenciaron una transición progresiva hacia técnicas moleculares, especialmente variantes avanzadas de PCR, debido a su mayor sensibilidad y especificidad en comparación con las pruebas serológicas convencionales. A

pesar del crecimiento en el uso de técnicas moleculares, la Prueba Rosa de Bengala mantiene una utilidad clínica significativa para el tamizaje poblacional y la identificación de casos agudos. No obstante, presenta limitaciones importantes: su especificidad puede verse comprometida por reacciones cruzadas con otros patógenos y su sensibilidad disminuye en fases crónicas. Esta heterogeneidad metodológica, junto con la variabilidad regional identificada, refleja los desafíos persistentes para la estandarización de los exámenes diagnósticos en laboratorios clínicos de nivel II y III.

Se evidencia la importancia de combinar métodos serológicos y moleculares para mejorar la precisión diagnóstica, especialmente en casos seronegativos que resultan positivos mediante PCR o en situaciones que requieren la identificación específica de las especies de *Brucella*. Un enfoque diagnóstico que integre manifestaciones clínicas, antecedentes epidemiológicos, serología adecuada según la fase de la enfermedad y confirmación molecular cuando corresponda resulta fundamental para optimizar el diagnóstico de brucelosis humana. Por lo tanto, se recomienda impulsar la validación y adopción de técnicas moleculares multiplex y el desarrollo de nuevos biomarcadores, así como la creación de protocolos estandarizados que faciliten su aplicación clínica y epidemiológica. La estandarización internacional de métodos, junto con la incorporación progresiva de tecnologías moleculares avanzadas, permitirá un diagnóstico más temprano, preciso y coste-efectivo en áreas endémicas, fortaleciendo la vigilancia y el control de la enfermedad.

Referencias

- Adabi, M., Karami, M., Keramat, F., Alikhani, M., & Bakhtiari, S. (2021). Serological and molecular investigation of human brucellosis in participants of Famenin brucellosis cohort study, Hamadan, Iran. *Iranian Journal of Microbiology*, 13(3), 319–324. <https://doi.org/10.18502/IJM.V13I3.6394>
- Akhtar, R., Ali, M., Ullah, A., Muttalib, A., Mehboob, K., Ullah, A., Ahmad, N., & Chohan, T. (2021). Genotyping of *Brucella* strains isolated from humans and cattle of different geographical regions of Pakistan using MLVA-15. *Veterinary Medicine and Science*, 7(5), 1688–1695. <https://doi.org/10.1002/VMS3.550>
- Riyadh, H., Abdullah, F., & Al-Saad, K. (2022). Expression of IL1 β Gene in the Placentas from Humans and Cows during *Brucella* Infection. *Archives of Razi Institute*, 77(5), 1549–1560. <https://doi.org/10.22092/ARI.2022.358327.2192>
- Almashhadany, D., Zefenkey, Z., & Odhah, M. (2022). Epidemiological study of human brucellosis among febrile patients in Erbil-Kurdistan region, Iraq. *Journal of Infection in Developing Countries*, 16(7), 1185–1190. <https://doi.org/10.3855/jidc.15669>
- Almuzaini, A., Aljohani, A., Alajaji, A., Elbehiry, A., Abalkhail, A., Almujaidel, A., Aljarallah, S., Sherif, H., Marzouk, E., & Draz, A. (2025). Seroprevalence of brucellosis in camels and humans in the Al-Qassim region of Saudi Arabia and its implications for public health. *AMB Express*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/S13568-025-01822-8>
- Becker, G., & Tuon, F. (2021). Comparative study of IS711 and bcsp31-based polymerase chain reaction (PCR) for the diagnosis of human brucellosis in whole blood and serum samples. *Journal of Microbiological Methods*, 183, 106182. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2021.106182>
- Bhartiya, N. M., Husain, A. A., Dagainawala, H. F., Singh, L. R., & Kashyap, R. S. (2020). Development of an immunodiagnostic test for screening human brucellosis cases using the whole-cell

- antigens of brucella abortus. *Malaysian Journal of Medical Sciences*, 27(6), 15–26. <https://doi.org/10.21315/mjms2020.27.6.3>
- Bosilkovski, M., Keramat, F., & Arapović, J. (2021). The current therapeutical strategies in human brucellosis. *Infection*, 49(5), 823–832. <https://doi.org/10.1007/S15010-021-01586-W>
- Centers for Disease Control and Prevention. (2017). *Brucellosis reference guide: exposures, testing, and prevention*. National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases. <https://www.cdc.gov/brucellosis/media/pdfs/2025/02/brucellosis-reference-guide.pdf>
- Corbel, M. (2006). *Brucellosis in humans and animals*. World Health Organization. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241547130>
- Di Bonaventura, G., Angeletti, S., Ianni, A., Petitti, T., & Gherardi, G. (2021). Microbiological Laboratory Diagnosis of Human Brucellosis: An Overview. *Pathogens*, 10(12), 1623. <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS10121623>
- Dong, S., Xiao, D., Liu, J., Bi, H., Zheng, Z., Wang, L., Yang, X., Tian, G., Zhao, H., Piao, D., Xing, Z., & Jiang, H. (2021). Fluorescence polarization assay improves the rapid detection of human brucellosis in China. *Infectious Diseases of Poverty*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/s40249-021-00834-3>
- Ejaz, M., Ali, S., Syed, M., Melzer, F., Faryal, R., Dadar, M., Abbasi, S., El-Adawy, H., & Neubauer, H. (2024). Seroprevalence and molecular detection of brucellosis among Pakistani women with spontaneous abortion. *Frontiers in Public Health*, 12, 1372327. <https://doi.org/10.3389/FPUBH.2024.1372327/BIBTEX>
- Elelu, N., Yakub-Obalowu, B., Chinedu, N., Odetokun, I., & Al-Mustapha, A. (2025). Risk perception, seroprevalence, and real-time PCR detection of Brucella among pyretic patients and domestic animals in Kwara State, Nigeria. *Scientific Reports*, 15(1), 10392. <https://doi.org/10.1038/S41598-025-94970-7>
- Ferjani, A., Buijze, H., Kopprio, G., Köhler, S., Rehaïem, A., Battikh, H., Ammari, L., Ferjani, S., Kanzari, L., Zribi, M., Kilani, B., Hanschmann, N., Scholz, H., & Boutiba, I. (2025). A Genomic Characterization of Clinical Brucella melitensis Isolates from Tunisia: Integration into the Global Population Structure. *Microorganisms* 2025, Vol. 13, Page 243, 13(2), 243. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13020243>
- Jafari, E., Togha, M., Salami, Z., Rahman, N., Alamian, S., & kheradmand, J. A. (2024). Seronegative brucella meningitis diagnosed by CSF PCR: report on seven cases. *BMC Infectious Diseases* 2024 24:1, 24(1), 1157-. <https://doi.org/10.1186/S12879-024-10022-X>
- Kumari, R., Kalyan, R., Jahan, A., Jain, A., Kumar, P., Gupta, K., & Manoj, A. (2023). Human Brucellosis: An Observational Study From a Tertiary Care Centre in North India. *Cureus*, 15(8). <https://doi.org/10.7759/CUREUS.42980>
- Laine, C. G., Johnson, V. E., Scott, H. M., & Arenas-Gamboa, A. M. (2023). Global Estimate of Human Brucellosis Incidence. *Emerging Infectious Diseases*, 29(9), 1789. <https://doi.org/10.3201/EID2909.230052>
- Laine, C., Scott, H., & Arenas-Gamboa, A. (2022). Human brucellosis: Widespread information deficiency hinders an understanding of global disease frequency. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 16(5). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PNTD.0010404>

- Lavigne, J., Magnan, C., Loubet, P., Sotto, A., O'Callaghan, D., & Keriell, A. (2025). What's new in the diagnosis and treatment of human brucellosis? In *Infectious Diseases Now* (Vol. 55, Issue 7). Elsevier Masson s.r.l. <https://doi.org/10.1016/j.idnow.2025.105121>
- Lita, E. , Mkupasi, E., Ochi, E., Misinzo, G., van Heerden, H., Katani, R., Godfroid, J., & Mathew, C. (2025). Molecular evidence of *Brucella abortus* circulating in cattle, goats, and humans in Central Equatoria State, South Sudan. *Scientific Reports* 2025 15:1, 15(1), 12378-. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-87368-y>
- Liu, X., Bao, X., Gao, L., Li, G., Chen, Z., & Zhai, J. (2023). Comparative application of droplet-based digital and quantitative real-time PCR for human brucellosis detection. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 107(4), 116087. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2023.116087>
- Liu, Z., Wang, M., Ta, N., Fang, M., Mi, J., Yu, R., Luo, Y., Cao, X., & Li, Z. (2020). Seroprevalence of human brucellosis and molecular characteristics of *Brucella* strains in Inner Mongolia Autonomous region of China, from 2012 to 2016. *Emerging Microbes and Infections*, 9(1), 263–274. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1720528>
- Lukambagire, A., Mendes, Â., Bodenham, R., McGiven, J., Mkenda, N., Mathew, C., Rubach, M., Sakasaka, P., Shayo, D., Maro, V., Shirima, G., Thomas, K., Kasanga, C., Kazwala, R., Halliday, J., & Mmbaga, B. (2021). Performance characteristics and costs of serological tests for brucellosis in a pastoralist community of northern Tanzania. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82906-w>
- Munyua, P., Osoro, E., Hunsperger, E., Ngere, I., Muturi, M., Mwatondo, A., Marwanga, D., Ngere, P., Tiller, R., Onyango, C., Njenga, K., & Widdowson, M. (2021). High incidence of human brucellosis in a rural pastoralist community in Kenya, 2015. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 15(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009049>
- Wormser, G., & Stratton, C. (2008). Manual of Clinical Microbiology, 9th Edition Edited by Patrick R. Murray, Ellen Jo Baron, James H. Jorgensen, Marie Louise Landry, and Michael A. Pfaller Washington, DC: ASM Press, 2007 2488 pp., illustrated. \$209.95 (hardcover). *Clinical Infectious Diseases*, 46, 153-153. <https://n9.cl/bt9ic>
- Page, M., McKenzie, J., Bossuyt, P., Boutron, I., Hoffmann, T., Mulrow, C., Shamseer, L., Tetzlaff, J., Akl, E., Brennan, S., Chou, R., Glanville, J., Grimshaw, J., Hróbjartsson, A., Lalu, M., Li, T., Loder, E., Mayo-Wilson, E., McDonald, S., ... Moher, D. (2021). The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*, 372. <https://doi.org/10.1136/BMJ.N71>
- Qasmaoui, A., Natoubi, S., Bougharouine, M., Ohmani, F., Halout, K., Hamamouchi, J., Belkadi, B., & Charof, R. (2025). Serological diagnosis of human brucellosis in Morocco and prospects for advanced diagnostic techniques. *Iranian Journal of Microbiology*, 17(5), 695–701. <https://doi.org/10.18502/ijm.v17i5.19877>
- Qureshi, K., Parvez, A., Fahmy, N., Abdel, B., Kumar, S., Ganguly, A., Atiya, A., Elhassan, G., Alfadly, S., Parkkila, S., & Aspatwar, A. (2024). Brucellosis: epidemiology, pathogenesis, diagnosis and treatment—a comprehensive review. *Annals of Medicine*, 55(2), 2295398. <https://doi.org/10.1080/07853890.2023.2295398>
- Rahbarnia, L., Farajnia, S., Naghili, B., & Saeedi, N. (2021). Comparative Evaluation of Nested Polymerase Chain Reaction for Rapid Diagnosis of Human Brucellosis. *Archives of Razi Institute*, 76(2), 203–211. <https://doi.org/10.22092/ARI.2020.127122.1371>

- Shafqat, S., Awais, M., Acaroz, U., Akhtar, M., Shirwany, A., Rasool, I., & Shah, N. (2025). Exploring the status of brucellosis in pregnant women presented with febrile illness at different healthcare facilities of Vehari and Lodhran zones of Pakistan. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 19(9), e0013525. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PNTD.0013525>
- Sharififar, R., Heidari, K., Mazandarani, M., & Lashkarbolouk, N. (2023). Comparison of the Polymerase Chain Reaction Method with Serological Tests in the Diagnosis of Human Brucellosis. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 16(2). <https://doi.org/10.5812/jjm-128698>
- Süer, K., Güvenir, M., Aykaç, A., Güler, E., Sayan, M., Şanlıdağ, T., & Gürbilek, S. (2023). Investigation of *Brucella canis* and *Brucella abortus* Seropositivity by In-House Rapid Slide Agglutination Test and In-House ELISA in Northern Cyprus. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 259(4), 319–326. <https://doi.org/10.1620/TJEM.2022.J096>
- Vakili, S., Samare-Najaf, M., Dehghanian, A., Tajbakhsh, A., Askari, H., Tabrizi, R., Iravani, M., Movahedpour, A., Alizadeh, M., Samareh, A., Taghizadeh, S., & Norouzi, S. (2021). Gold Nanobiosensor Based on the Localized Surface Plasmon Resonance is Able to Diagnose Human Brucellosis, Introducing a Rapid and Affordable Method. *Nanoscale Research Letters*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s11671-021-03600-4>
- Waringa, N., Waiboci, L., Bebora, L., Kinyanjui, P., Kosgei, P., Kiambi, S., & Osoro, E. (2023). Human brucellosis in Baringo County, Kenya: Evaluating the diagnostic kits used and identifying infecting *Brucella* species. *PLOS ONE*, 18(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0269831>
- Yousaf, R., Khan, I., Shehzad, W., Hussain, R., Ali, S., Neubauer, H., & Wareth, G. (2021). Seroprevalence and Molecular Detection of Brucellosis in Hospitalized Patients in Lahore Hospitals, Pakistan. *Infectious Disease Reports 2021, Vol. 13, Pages 166-172*, 13(1), 166–172. <https://doi.org/10.3390/IDR13010018>

Transparencia

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existen conflictos de interés de naturaleza alguna como parte de la presente investigación.

Fuente de financiamiento

Los autores financiaron completamente la investigación.

Contribución de autoría

Ruth Nathaly Zamora Pujos: Conceptualización, metodología, software, análisis formal, investigación, gestión de datos, visualización, redacción - preparación del borrador original, redacción - revisión y edición, financiamiento, administración del proyecto, recursos.

Maria del Carmen Cordovéz Martínez: Validación, visualización, redacción - revisión y edición, financiamiento, supervisión.

Los autores contribuyeron activamente en el análisis de los resultados, revisión y aprobación del manuscrito final.