

Brucelosis en personas con riesgo ocupacional en clínicas veterinarias de dos ciudades del centro sur de Chile

Brucellosis in people with occupational risk in veterinary clinics in two cities in south central Chile

Romy Weinborn A.^{1,6}, Macarena Zanelli G.², Ignacio Troncoso T.^{2,3,4},
Álvaro Opazo V.⁵, Karina Valenzuela A.², Sebastián Cárdenas Z.²,
Rodrigo García², Samuel Vásquez A.²

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la seroprevalencia de *Brucella* spp en personas con riesgo ocupacional en clínicas veterinarias de dos ciudades del centro sur de Chile (Talca y Puerto Montt). Se analizaron 98 sueros humanos mediante la técnica de aglutinación Wright-Huddleson (sensibilidad 54.9%, especificidad 100%) y se utilizó el test exacto de Fischer o X^2 para evaluar diferencias significativas entre grupos ($p < 0.05$). Se encontró 3% de seropositividad a *Brucella* spp (1.8% [1/53] para Talca y 4.4% [2/45] para Puerto Montt). Según las funciones realizadas dentro de las clínicas veterinarias, la seropositividad fue de 1.4% (1/71) para alumnos de medicina veterinaria y 10% (2/19) en médicos veterinarios, sin diferencias significativas entre grupos.

Palabras clave: brucelosis, zoonosis, enfermedad ocupacional, Reacción de Wright-Huddleson, Chile

¹ Escuela de Ciencias Agrícolas y Veterinarias, Carrera Medicina Veterinaria, Universidad Viña del Mar, Chile

² Facultad de Recursos Naturales y Medicina Veterinaria, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad del Bío-Bío, Temuco, Chile

³ Universidad de las Américas, Concepción, Chile

⁴ Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Pedro de Valdivia, Chillán

⁵ Universidad Andrés Bello, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad Ciencias de la Vida, sede Concepción, Chile

⁶ E-mail: romy.weinborn@uvm.cl

Recibido: 31 de enero de 2020

Aceptado para publicación: 19 de agosto de 2020

Publicado: 25 de noviembre de 2020

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the seroprevalence of *Brucella* spp in people with occupational risk in veterinary clinics in two cities in south central Chile (Talca and Puerto Montt). Human sera (n=98) were analyzed using the Wright-Huddleson agglutination technique (sensitivity 54.9%, specificity 100%) and the exact Fischer test or X^2 was used to evaluate significant differences between groups ($p < 0.05$). A 3% seropositivity to *Brucella* spp was found (1.8% [1/53] for Talca and 4.4% [2/45] for Puerto Montt). According to the functions performed within veterinary clinics, seropositivity was 1.4% (1/71) for veterinary medicine students and 10% (2/19) in veterinary doctors, without significant differences between groups.

Key words: brucellosis, zoonoses, occupational diseases, Wright-Huddleson reaction, Chile

INTRODUCCIÓN

La brucelosis es una zoonosis cosmopolita, que ocasiona más de medio millón de casos anuales en humanos, especialmente en países en desarrollo (Olivares *et al.*, 2017). En Latinoamérica, la mayor incidencia se presenta en Argentina, Perú y México (Méndez *et al.*, 2013). La infección por *Brucella* spp en los humanos es frecuentemente sub-reportada (Sánchez-Jiménez *et al.*, 2013).

El patógeno pertenece a una bacteria de la familia Brucellaceae, cocobacilo pequeño gram negativo, intracelular facultativo, aerobio y de lento crecimiento (Álvarez-Hernández *et al.*, 2015). El género consta de 12 especies de *Brucella* (Hensel *et al.*, 2018), siendo consideradas como zoonóticas *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. canis* y *B. inopinata*, transmitidas directa o indirectamente por el bovino, cabra, cerdo y perro, respectivamente (Gyles *et al.*, 2010); sin embargo, se desconoce la especie que transmite *B. inopinata* (Álvarez-Hernández *et al.*, 2015).

Las bacterias pueden mantenerse viables por varios meses en el agua, fetos abortados, heces, equipo y ropa bajo alta humedad alta, baja temperatura y poca luz solar

(Martínez, 2013). También se puede encontrar en el semen, orina, heces, saliva y secreciones oculares y nasales (Corbel, 2006; Álvarez-Hernández *et al.*, 2015). La vía directa de infección para los humanos es a través del manejo de animales infectados (o sus secreciones) por medio de abrasiones de la piel, mucosas e inhalación de aerosoles, mientras que la vía indirecta es a través de la ingesta de productos cárnicos crudos y derivados lácteos crudos o no pasteurizados (Álvarez-Hernández *et al.*, 2015).

La Organización Internacional del Trabajo (ILO) clasifica la brucelosis dentro de la categoría de enfermedades infecciosas de origen bacteriano relacionadas con salud ocupacional (ILO, 2005) y el Ministerio de Salud de Chile (MINSAL) la declara enfermedad de notificación inmediata (ILO, 2005; MINSAL, 2011). Las personas con mayor riesgo de contraer la patología son trabajadores de laboratorios, mataderos, clínicas veterinarias y ganaderos (Tuemmers *et al.*, 2013; Álvarez-Hernández *et al.*, 2015).

Los signos clínicos y síntomas asociados en el humano son fluctuantes e inespecíficos, lo que dificulta el diagnóstico. La forma aguda septicémica, corresponde a la mitad de los casos reportados (Vega López

et al., 2008), presentando fiebre ondulante (39-40 °C), escalofríos, astenia, dolores articulares y musculares entre otros (Maguiña *et al.*, 2004; Medicins Sans Frontieres, 2016; Olivares *et al.*, 2017). En la forma crónica, se presenta astenia física y psíquica, sudores, polialgias (Medicins Sans Frontieres, 2016), pudiendo desarrollarse por semanas a meses (Vega López *et al.*, 2008).

Entre las pruebas serológicas para el diagnóstico de brucelosis se encuentra la técnica de Aglutinación en Tubo de Wright-Huddleson que mide anticuerpos IgM-IgG (MINSAL, 2011); sin embargo, en Chile se requiere pruebas capaces de detectar positivos con títulos $\geq 1:80$ (Olivares *et al.*, 2017). El ELISA (IgG, IgM) presenta una sensibilidad del 95.3% y una especificidad del 95.1% (Rivera *et al.*, 2003), siendo de utilidad en las fases agudas y crónicas de la enfermedad (Ministerio de Salud, 2011). En cuanto a pruebas moleculares, el PCR en Tiempo Real permite diferenciar casos agudos y crónicos (MINSAL, 2011) con una sensibilidad del 94.9% y una especificidad del 96.5% (Morata *et al.*, 2003). El hemocultivo y aislamiento de *Brucella* spp continúa representando la técnica de referencia para brucelosis (Ministerio de Salud, 2011; Martínez, 2013), aunque por la naturaleza intracelular facultativa y la bacteremia intermitente no siempre es factible obtener una muestra adecuada (Versalovic *et al.*, 2011).

La brucelosis humana, en Chile es una enfermedad clínica de baja ocurrencia y se le considera como de incidencia desconocida (Martínez, 2013). Se reporta una incidencia de 0.55 casos por 100 mil habitantes, sin embargo, se informa que su incidencia debiese ser entre 10 a 25 veces mayor a la reportada nacionalmente (Olivares *et al.*, 2017). En un análisis de datos secundarios (2001-2010) del Sistema enfermedad de notificación obligatoria (ENO) del MINSAL y del Instituto de Salud Pública (ISP) con 90 casos notificados se reportó 77% por brucelosis no especificada, 16% por *B. abortus*, 4% por *B. melitensis* (importada), 2% para otras brucelosis, 1%

por *B. suis* y ningún caso para *B. canis* (Martínez, 2013). Sin embargo, el Instituto de Salud Pública aisló 11 cepas de *B. abortus*, 3 de *B. canis* y 1 de *B. melitensis* (caso importado) desde pacientes enfermos y hospitalizados en Chile entre 2009 y 2014 (ISP, 2014). La vigilancia para brucelosis en Chile, según el D.S. N.º 158/04 del MINSAL, es universal e inmediata, debiendo notificarse los casos a las Secretarías Regionales Ministeriales de Salud (SEREMI) correspondiente (Ministerio de Salud, 2011).

En el caso de los animales en Chile, el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) inició el control de la brucelosis bovina en 1975, disminuyendo la prevalencia de 7% en 1975 a 2.9% en 1982 (Martínez, 2013). En 1991 se inició el programa de erradicación de la brucelosis bovina en el país, siendo actualmente la prevalencia de brucelosis bovina en el país de 0.4%, habiéndose erradicado *Brucella melitensis* del ganado caprino en 1987 (Ministerio de Salud de la Nación, 2013). En el caso de caninos domésticos urbanos se indica una prevalencia entre el 7 y 30% (Tuemmers *et al.*, 2013; Weinborn *et al.*, 2014). El último estudio publicado sobre brucelosis canina en Santiago de Chile arrojó un 8.7% de seropositividad a ELISA indirecto (Sánchez, 2017); sin embargo, para la población humana con riesgo se tiene el dato de 2005 en donde *B. canis* tuvo una prevalencia del 4% determinada por inmunofluorescencia indirecta (Valenzuela *et al.*, 2005). Ante esto, el objetivo de esta investigación fue conocer la actual seroprevalencia de la brucelosis en una población con riesgo ocupacional.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se efectuó en las ciudades de Talca (Región del Maule) y en Puerto Montt (Región de los Lagos) del centro sur de Chile. Se invitó a participar a alumnos vigentes de la carrera de Medicina Veterinaria de una universidad privada y a médicos veterinarios, personal técnico y/o administrativo de clíni-

cas veterinarias de pequeños animales de ambas ciudades. Como criterios de inclusión se consideraron todos aquellos individuos mayores a 18 años que trabajasen o desarrollasen sus actividades prácticas académicas en los hospitales clínicos de la universidad y en clínicas veterinarias de pequeños animales de las dos ciudades, independiente de edad, sexo o función.

El cálculo de tamaño muestral se obtuvo mediante la fórmula de poblaciones infinitas, ya que se desconocía la cantidad de personas con riesgo ocupacional, con un nivel de confianza del 95% y una precisión del 4% (Valenzuela *et al.*, 2005), obteniendo como resultado un *n* de 92 muestras. No obstante, se trabajó con 98 muestras que cumplieron con los criterios de inclusión. La población se estratificó con base a su «función» como médicos veterinarios (profesionales que trabajasen en las clínicas), alumnos (estudiantes de pregrado de la carrera de medicina veterinaria) y otro personal (todo individuo que trabajase en clínica veterinaria que no fuera médico veterinario o alumno). Para la categoría «ciudades» se consideraron Puerto Montt y Talca.

Todos los participantes firmaron un documento de consentimiento informado (Resolución N.º 09/2013 del Comité de Ética de la Universidad Santo Tomás). Posteriormente, se realizó la toma de muestra de sangre en tubos sin EDTA. Las muestras fueron centrifugadas a 1512 g durante 5 min para la obtención de los sueros (mínimo 500 µl), los que fueron almacenados a -20 °C hasta su procesamiento. Los sueros fueron enviados al servicio del Laboratorio Clínico del Centro Médico San Joaquín de la Pontificia Universidad Católica de Chile, ubicado en la ciudad de Santiago.

Se realizó la prueba de aglutinación en tubo de Wright Huddleson, siendo considerado como positivo un título de anticuerpos $\geq 1/80$. Esta prueba utiliza la reacción de aglutinación entre parte de la *Brucella* (*B. abortus* y *B. melitensis*) y anticuerpos

(Cenogenics® Labs). En esta prueba, primero se lleva a cabo la reacción de Huddleson, la que consiste en una reacción de aglutinación rápida en placa donde se enfrentan cantidades decrecientes del suero a investigar con cantidades constantes de antígeno y se observa la presencia o no de aglutinación. Es una prueba tamiz para el diagnóstico de *Brucella* spp en humanos (Lucero *et al.*, 2008). El grado de aglutinación en cada una de las diluciones puede clasificarse como positiva en caso de aparecer algún grado de aglutinación (Burgos y Escobar, 2006), como incompleta si la aglutinación es parcial, y negativa en caso de ausencia total de aglutinación. En los casos positivos, se realiza una prueba de aglutinación lenta en tubo o de Wright (SAT) y 48 horas después se leen las reacciones de aglutinación (Herrera y Cárdenas, 2003). Esta prueba, basada también en la aglutinación de una suspensión de *Brucella* inactivadas, enfrenta por un lado, una cantidad constante de antígeno, y por otro, diluciones crecientes de suero a investigar, detectando IgM e IgG (Paredes, 2012). Para la técnica de Huddleson, los valores de confiabilidad diagnóstica descritos son 54.9, 100, 100 y 8.5%, para los parámetros de sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo, respectivamente (Barreira y Castellanos, 2010).

El estudio fue de tipo descriptivo y transversal. Los resultados fueron expresados en frecuencias relativas, frecuencias absolutas, utilizando los programas Microsoft Excel 2007® y Graphpad Prism v. 7.0®, empleando el test exacto de Fischer o el Chi cuadrado para asociar los grupos. Se consideró un valor de $p < 0.05$ como significativo.

RESULTADOS

Se muestrearon a 71 alumnos, 19 médicos veterinarios y 8 como parte de «otro personal» (Cuadro 1). Se obtuvo una seropositividad de 3% (3/98), siendo 1.8% (1/53) para Talca y 4.4% (2/45) para Puerto Montt, sin diferencias significativas entre grupos.

Cuadro 1. Seropositividad (pos) a *Brucella* spp en población de riesgo ocupacional, según las funciones de la población muestreada

Población	Talca		Puerto Montt		Total	
	n	Pos	n	Pos	n	Pos
Alumnos	46	1	25	0	71	1
Otro personal ¹	2	0	6	0	8	0
Médicos veterinarios	5	0	14	2	19	2
Total	53	1	45	2	98	3

¹ Toda persona que trabajase en clínica veterinaria que no fuera médico veterinario

DISCUSIÓN

El único individuo positivo en Talca fue un estudiante, mientras que los dos casos positivos en Puerto Montt correspondieron a médicos veterinarios. Dado el pequeño número que resultó positivo a la Reacción Wright-Huddleson no se pudo establecer diferencias estadísticas según las funciones laborales que desempeñan dentro de las clínicas; sin embargo, el estrecho contacto con animales, trabajo con animales e incluso trabajo en laboratorios con este tipo de bacterias es un factor que pone en riesgo al humano para adquirir esta zoonosis (Hensel *et al.*, 2018).

Valenzuela *et al.* (2005) evaluó el riesgo ocupacional para *B. canis* en Chile, con una muestra de 100 veterinarios y peluqueros caninos mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) y contraelectroforesis (CIEF), obteniendo 4% de seropositividad; resultado similar al del presente estudio, aunque ciertamente con técnicas serológicas diferentes. A nivel internacional, se ha reportado 3.6% de seropositividad por *B. canis* (Krueger *et al.*, 2014), datos que coinciden con los resultados del actual estudio, aunque en la presente investigación no se pudo establecer la especie, ya que las técnicas serológicas utilizadas des-

criben algunas reacciones cruzadas con bacterias gram negativas, como por ejemplo *Pseudomonas* spp o *Bordetella bronchiseptica*, entre otras (Pardo *et al.*, 2009; Hensel *et al.*, 2018), de allí que se deberían aplicar pruebas adicionales, tanto serológicas pareadas como hemocultivos para su posterior identificación genómica. Los resultados obtenidos como seropositivos deben ser interpretados en conjunto con la signología clínica, ya que esto permitiría inferir que el paciente ha sido expuesto a la enfermedad (Ministerio de Salud, 2011). En el presente estudio, el estudiante de Talca describió haber presentado signología clínica compatible, como lindoadenopatía, fiebre, mialgia y escalofríos unos meses previos al análisis de la muestra.

Respecto a las técnicas serológicas utilizadas en la presente investigación, se describe 54.9% de sensibilidad, 100% de especificidad, 100% de valor predictivo positivo (VPP) y 8.5% de valor predictivo negativo (VPN), lo que indica una ausencia de falsos negativos de 54.9%, valor bastante bajo, pero 100% de ausencia de falsos positivos, con 100% de probabilidad de obtener un diagnóstico verdadero positivo y 8.5% de probabilidad de obtener un diagnóstico verdadero negativo (Barrera y Castellanos, 2010), datos que permiten inferir que los individuos

seropositivo, en la presente investigación tienen una alta probabilidad de ser positivos. No obstante, no fue posible identificar la especie de *Brucella* que estaría dando positivo.

Es vital tener presente que los estudios de seroaglutinación lenta en tubo presentan dos inconvenientes: su falta de sensibilidad que no permite una detección precoz y la dificultad en interpretar los resultados y en particular los títulos bajos. Esto determina la necesidad de realizar pruebas diagnósticas complementarias, ya que puede ser negativa en las primeras etapas de la infección y en infecciones crónicas (Cabrera *et al.*, 2005). Sin embargo, en el presente estudio los individuos seropositivos fueron consistentes en ambas técnicas.

La seroprevalencia encontrada demuestra la necesidad de una mayor vigilancia epidemiológica de esta zoonosis, sobre todo en personas. En particular, en Talca se tiene una población 7% de seropositividad a brucelosis en perros vagabundos (Weinborn *et al.*, 2014). El problema radica en que aunque existe una obligatoriedad para médicos cirujanos de denunciar la brucelosis (Ministerio de Salud, 2004), independiente del origen animal, para los médicos veterinarios, a excepción de quienes trabajan en planteles con certificación del SAG para especies de abasto, no rige dicha obligación, por lo que muchas veces por desconocimiento y por no existir políticas de salud pública que consideren de manera integrada a los diferentes profesionales y todas las especies animales hace que los casos detectados no sean denunciados. En el caso de los médicos veterinarios, es necesario capacitar para que puedan diagnosticar y reconocer esta patología como de denuncia obligatoria, independiente de la especie, y así educar a la población general para evitar riesgos de zoonosis por estrecho contacto con animales.

CONCLUSIONES

Se estableció 3% (3/98) de seropositividad a *Brucella* spp en personas con riesgo ocupacional en dos ciudades del centro-sur de Chile (Talca y Puerto Montt).

LITERATURA CITADA

1. **Álvarez-Hernández NE, Díaz-Flores M, Ortiz-Reynoso M. 2015.** Brucelosis, una zoonosis frecuente. *Rev Med Invest* 129-133. doi: 10.1016/j.mei.2015.07.002
2. **Barrera D, Castellanos P. 2010.** Seroprevalencia de anticuerpos anti-*Brucella* sp. en donantes del banco de sangre de la Cruz Roja Colombiana seccional Meta. Tesis de Bacterióloga. Bogotá, Colombia: Pontificia Universidad Javeriana. 66 p.
3. **Burgos L, Escobar R. 2006.** Estudio epidemiológico sobre la prevalencia de brucelosis en hembras bovinas en el municipio de San Pedro de Lóvago-Chontales. Tesis de Médico Veterinario. Managua, Nicaragua: Univ. Nacional Agraria. 39 p.
4. **Cabrera C, Silva E, Izquierdo M, García C. 2005.** Empleo del ELISA DAVIH BRU 2 en el diagnóstico serológico de la brucelosis bovina. *REDVET* 6(5). [Internet]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63617216005>
5. **Corbel MJ. 2006.** Brucellosis in humans and animals. World Health Organization. 89 p.
6. **Gyles CL, Prescott JF, Songer JG, Thoen CO. 2010.** Pathogenesis of bacterial infections in animals. Oxford, UK: Wiley-Blackwell. 623 p.
7. **Hensel ME, Negron M, Arenas-Gamboa AM. 2018.** Brucellosis in dogs and public health risk. *Emerg Infect Dis* 24: 1401-1406. doi: 10.3201/eid2408-171171

8. **Herrera S, Cárdenas M. 2003.** Brucelosis: diagnóstico serológico y vacunas. Lima, Perú: Instituto Nacional de Salud. 57 p.
9. **[ILO] Organización Internacional del Trabajo. 2005.** Reunión de expertos sobre la actualización de la lista de enfermedades profesionales. [Internet]. Disponible en: https://www.ilo.org/wcmsp5/groups/public/—ed_protect/—protrav/—safe-work/documents/meeting-document/wcms_116930.pdf
10. **Krueger WS, Lucero NE, Brower A, Heil GL, Gray GC. 2014.** Evidence for unapparent *Brucella canis* infections among adults with occupational exposure to dogs. *Zoonoses Public Hlth* 61: 509-518. doi: 10.1111/zph.12102
11. **Lucero NE, Ayala SM, Escobar GI, Jacob NR. 2008.** *Brucella* isolated in humans and animals in Latin America from 1968 to 2006. *Epidemiol Infect* 136: 496-503. doi: 10.1017/S095026880-7008795
12. **Maguiña C, Soto L, Egoavil M, Breña P. 2004.** Enfermedades de mascotas en humanos. Revisión actualizada. *Rev Soc Per Med Inter* 17: 12-26.
13. **Martínez P. 2013.** *Brucelosis humana: situación epidemiológica en Chile, 2001-2010.* *Rev Chil Infectol* 30: 653-659. doi:10.4067/S0716-10182013-000600013
14. **Medicins Sans Frontieres. 2016.** Guía clínica y terapéutica. Para uso del personal sanitario cualificado en programas curativos, en hospitales y dispensarios. *Medicins Sans Frontieres*. 358 p.
15. **Méndez IA, Trujillo DM, Duque CM, Acero EJ, Cabrera LA, Pachón DP. 2013.** Seroprevalencia de *Brucella* spp en estudiantes de Medicina Veterinaria, Bogotá, Colombia. *Rev Univ Ind Santander* 45: 39-48.
16. **[MINSAL] Ministerio de Salud. 2011.** Circular de vigilancia epidemiológica de brucelosis. CIE 10: A23. Chile: Subsecretaría de Salud Pública. [Internet]. Disponible en: https://www.hhha.cl/transparencia/eno/circular_vigilancia/brucelosis2011.pdf
17. **Ministerio de Salud. 2004.** Reglamento sobre notificación de enfermedades transmisibles de declaración obligatoria. [Internet]. Disponible en: https://diprece.minsal.cl/wrdprss_minsal/wp-content/uploads/2015/01/DECRETO-158-Enfermedades-de-Notificaci%C3%B3n-Obligatoria.pdf
18. **Ministerio de Salud de la Nación. 2013.** Enfermedades infecciosas brucelosis. Diagnóstico de Brucelosis. Guía para el equipo de salud. [Internet] Disponible en: <http://www.msal.gov.ar/images/stories/bes/graficos/000000-0304cnt-guia-medica-brucelosis.pdf>
19. **Morata P, Queipo-Ortuño MI, Reguera JM, García-Ordoñez MA, Cárdenas A, Colmenero JD. 2003.** Development and evaluation of a PCR-enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of human brucellosis. *J Clin Microbiol* 41: 144-148. doi: 10.1128/jcm.41.1.144-148.2003
20. **Olivares R, Vidal P, Sotomayor C, Norambuena M, Luppi M, Silva F, Cifuentes M. 2017.** Brucelosis en Chile: descripción de una serie de 13 casos. *Rev Chil Infectol* 34: 243-247. doi: 10.4067/S0716-10182017000300006
21. **Pardo A, Pérez C, Góngora A, Gómez L, Moreno A. 2009.** Encuesta exploratoria de infección por *Brucella canis* en perros de Villavicencio-Colombia. *Rev MVZ Córdoba* 14: 1690-1696. doi: 10.21897/rmvz.352
22. **Paredes S. 2012.** Determinar la prevalencia de brucelosis bovina y factores de riesgo en la Parroquia Alluriquín, Recinto Cristal de Lelia. Tesis de Ingeniero Agropecuario. Santo Domingo, Ecuador: Escuela Politécnica del Ejército. 129 p.
23. **Rivera DY, Rueda OE, Calderon CP, Mariño JOC, Gall D, Nielsen K. 2003.** Evaluación comparativa del método inmunoenzimático indirecto en leche para la detección de bovinos infectados con *Brucella abortus*, en hatos del departamento de Cundinamarca, Colombia. *Rev Sci Tech OIE* 22: 1065-1075. doi: 10.20506/rst.22.3.1454

24. **Sánchez-Jiménez MM, Giraldo-Echeverri CA, Olivera-Angel M. 2013.** Infección por *Brucella canis* en humanos: propuesta de un modelo teórico de infección a través de la ruta oral. *Infectio* 17: 193-200. doi: 10.1016/S0123-9392(13)70731-8
25. **Sánchez F. 2017.** Seroprevalencia de brucelosis canina en perros con dueño del Gran Santiago y factores de riesgo asociados a su presentación. Tesis de Maestría. Santiago, Chile: Univ. de Chile. 51 p.
26. **Servicio Agrícola y Ganadero, 2008.** Situación sanitaria animal de Chile 2008. [Internet]. Disponible en: https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/situacion_sanitaria_animal_2008_0.pdf
27. **Tuermers C, Lüders C, Rojas C, Serri M, Castillo C, Espinoza R. 2013.** Detección de *Brucella canis* por método de inmunocromatografía en perros vagos capturados en la ciudad de Temuco, Chile, 2011. *Rev Chil Infectol* 30: 395-401. doi: 10.4067/S0716-10182013000-400007
28. **Valenzuela N, García P, Salgado S, Concha M, Abarca K, López J, Borie C. 2005.** Seroprevalencia en humanos de *Brucella canis* en un grupo con exposición ocupacional. En: XXII Congreso Chileno de Infectología. Puerto Varas, Chile.
29. **Vega CA, Ariza R, Rodríguez FL. 2008.** Brucelosis. Una infección vigente. *Acta Médica Grupo Ángeles* 6: 158-165.
30. **Versalovic J, Carroll K, Funke G, Jorgensen J, Landry ML, Warnock D, 2011.** Manual of clinical microbiology. 10th ed. USA: American Society of Microbiology. 2552 p.
31. **Weinborn R, Sánchez N, Trocoso I, Liendo C. 2014.** Seroprevalencia de brucelosis canina en un grupo de caninos vagabundos del sector oriente de la ciudad de Talca-Chile. En: III Congreso Panamericano de Zoonosis. La Plata, Buenos Aires.