

ARTICULO ORIGINAL

Características epidemiológicas y diagnóstico de brucelosis en pacientes del instituto de medicina tropical, periodo 2017-2019

Epidemiological characteristics and diagnosis of brucellosis in patients of the tropical medicine institute period 2017-2019

Vera Cabral, Edén¹; San Miguel, María Cristina¹; Vera San Miguel, Lara¹; Domínguez Aguilera, Kevin¹

¹Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Médicas, Cátedra de Microbiología. Asunción, Paraguay.

RESUMEN

La brucelosis es una zoonosis que en humanos está relacionada íntimamente con la enfermedad en animales domésticos y de interés económico. Presenta 2 patrones: urbano-alimentario (consumo de leche y quesos no pasteurizados) y el rural-laboral (exposición profesional al ganado infectado). El objetivo consistió en conocer las características epidemiológicas y las técnicas que arriban al diagnóstico de Brucelosis, en un consultorio del Instituto de Medicina Tropical, del 2017 al 2019. Se realizó un estudio de tipo descriptivo y corte transversal. Se realizó el análisis de 44 pacientes con diagnóstico de Brucelosis. El 25 % de los pacientes requirieron internación. El rango de edad estuvo entre 7 a 61 años, con una media de 29 años, y una moda de 22. Las puertas de entrada fueron: por contacto con cabras positivas en el campo de práctica, faenadores, veterinarios, vacunadores, y por ingesta de leche sin pasteurizar. Las muestras serológicas por reacción de *Huddleson* fueron positivas a bajas diluciones; Aglutinación en tubo: 31 muestras positivas; aglutinación con 2 mercaptoetanol: 11 muestras positivas. Se llegó a la identificación de cepas *Brucella melitensis* biotipo 1: en 13 pacientes. Nuestro estudio indica la presencia de brucelosis humana, fundamentalmente por contacto directo debido a razones profesionales y/o laborales. La vigencia de Brucelosis deriva de una situación endémica en el ganado, y por tanto se deberán intensificar las medidas del saneamiento del ganado (vacunación) y la educación de la población de riesgo.

Palabras Clave: Brucelosis humana, Diagnósticos, Paraguay.

Autor correspondiente: Prof. Dra. María Cristina San Miguel. Profesora Adjunta, Cátedra de Microbiología, Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Médicas. Asunción, Paraguay. E-mail: msanmiguel@med.una.py.

Fecha de recepción el 02 de Enero del 2020; aceptado el 23 de Marzo del 2020.

ABSTRACT

Brucellosis is a zoonosis in humans that is closely related to the disease in domestic and of economic interest- animals. It presents 2 main patterns: urban-alimentary (for consumption of unpasteurized milk and cheeses) and the rural-occupational (for professional exposure to infected cattle). The objective was to know the frequency of cases and the different laboratory techniques that arrives to the diagnosis of Brucellosis, in the Tropical Medicine Institute (IMT by its acronym in Spanish) during the period of 2017 to 2019. It has been made a descriptive and cross-sectional investigation. It was based on the analysis of 44 patients diagnosed with Brucellosis. 25% of the patients (11) required hospitalization. The age range was between 7 to 61 years, with a mean of 29 years old and a mode of 22. The portals of entry were: by contact with positive goats in the field of practice, slaughterhouses, veterinarians, vaccinators, and consume of unpasteurized milk. The serological samples by *Huddleson* reaction were positive with low dilutions; tube agglutination: 31 positive samples; agglutination with 2 mercaptoethanol: 11 positive samples. Biotype 1 of *Brucella melitensis*: identified in 13 patients. Our study indicates the existence of human brucellosis, mainly through direct contact due to professional and/or occupational reasons. This incidence must derive from an endemic situation in cattle, and therefore the measures of sanitation of cattle (vaccination) and education of the population at risk should be intensified.

Keywords: Human Brucellosis, Diagnosis, Paraguay.

INTRODUCCION

La brucelosis es la enfermedad zoonótica con múltiples y variadas presentaciones sintomatológicas y causante de diversas patologías agudas y complicaciones crónicas, entre ellas espondilo artritis, neurobrucelosis y endocarditis infecciosa, situación que dificulta el diagnóstico de no saberse la prevalencia, o no tener presunción diagnóstica (1). El reservorio natural de la *Brucella* son los animales: vaca, cabra, oveja, cerdos y perros. La especie más prevalente a nivel global es la *Brucella abortus*(Ba), relacionada con infecciones bovinas y abortos en dicho ganado lo cual provoca grandes pérdidas económicas, pues

reduce la fertilidad del ganado, ya que se debe sacrificar y desechar las carnes de los bovinos infectados. Sin embargo, la más asociada a expresión clínica más grave sintomática en humanos es la *B. melitensis* (Bm), debido a la dificultad que supone la erradicación en cabras y ovejas de ganadería extensiva en las regiones endémicas. Otras especies (suis, canis) también pueden tener significación clínica, sin embargo, la relevancia estadística de estas está limitada a áreas endémicas muy restringidas. (Tabla1) (2-4).

Especie	Biovar	Reservorio	Patogenicidad
B. melitensis	1	Cabras	Alta
	2		Alta
	3		Alta
B. abortus	1-7	Bovinos	Moderada
B. suis	1	Cerdos	Alta
	2		Sin notificación
	3		Alta
	4		Moderada
	5		Alta
B. ovis	Ovejas	Sin notificación
B. neotomae	Ratas	Sin notificación
C. canis	Perros	Sin notificación

Tabla 1. Especies de *Brucella* (B) según Biovar, Reservorio y Patogenicidad

La Frecuencia de Brucelosis en América varía según países. A pesar de ser infrecuente en EE. UU, la brucelosis presenta entre 100-200 casos anuales, por lo general extranjeros. En hospitales de tercer nivel de Chicago, desde 1986-2008 describieron 22 casos de los cuales fueron 14 latinos y 5 árabes y entre estos 18 habían viajado a un país endémico (México). La presentación clínica inicio posterior a un promedio de 0.5 meses después del contacto, debutando con 60% esplenomegalia, 55% hepatomegalia y 35% artritis, se hallaron transaminasas elevadas en el 80% (5,6).

Durante el año 2000, en la Catedra de Microbiología de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Asunción, se analizaron 236 muestras de suero humanos en grupos de riesgo; veterinarios trabajadores de frigoríficos, ordeñadores de Asunción y Gran Asunción: describiendo el porcentaje de positividad para cada prueba: 8,5 % para SAT, 13,6 % para AP (Aglutinación en placas), 7,6 % para RB, y 1,3 % para 2-ME (7).

La enfermedad en humanos se asocia frecuentemente al sexo masculino, entre los 30 y 40 años, en población rural que por su ocupación están en contacto con animales, como en veterinarios, laboratoristas, trabajadores de frigoríficos y peones de campo (8).

Existen 2 patrones epidemiológicos: a) urbano-alimentario: *Por consumo de alimentos no pasteurizados de origen animal, como leche y sus derivados (quesos, crema, manteca, helados) y en menor medida carnes poco cocidas b) rural- laboral: *Por Contacto de piel o mucosas con tejidos de animales infectados o sus productos como ganglios, sangre, orina, semen, secreciones vaginales, fetos abortados y en especial placentas. * Por Inhalación: de material infectado-contaminado. *Por Inoculación: este tipo de transmisión afecta fundamentalmente a veterinarios, matarifes y personal de laboratorio. Se ha descrito la enfermedad por auto inoculación accidental de vacuna de *Brucella abortus* cepa 19 y *B. melitensis*, de uso en medicina veterinaria. La transmisión interhumana es excepcional, aunque se ha informado posterior a una transfusión de sangre, trasplante de médula ósea. De lo anterior se desprende que los factores de riesgo para brucelosis son: la Ocupación, la Alimentación y la Convivencia con animales (9,10).

El diagnóstico de brucelosis, recomendado por OMS y protocolizado en Paraguay, puede

realizarse de manera directa (búsqueda del Microorganismo), aislando el microorganismo a partir de cultivos de sangre, médula ósea u otros tejidos, o indirecta a través de métodos serológicos que detectan anticuerpos. La mayoría de los pacientes son diagnosticados a través de métodos indirectos (serología), ya que la bacteriología es positiva en la etapa aguda de la enfermedad (11).

SENACSA (Servicio Nacional de Calidad y Salud Animal), es la institución encargada de la reglamentación del "Programa Nacional de Control, Prevención y Erradicación de la Brucelosis" desde el año 1978. En la actualidad el titular de SENACSA refiere que la enfermedad está presente en la región durante todo el año, hay países que ya lograron erradicarla, pero en Paraguay, cada año se analizan 100.000 muestras de animales, y la prevalencia de la enfermedad es del 4 %. Este marco legal reglamenta los diferentes componentes del programa relacionados a: vacunación, categorías de animales a ser vacunados, materiales sujetos a análisis de laboratorio, acciones a ser implementadas en casos de resultados positivos, requisitos de importación/exportación de especies susceptibles y sanciones a ser aplicadas en casos de incumplimiento. En el Código Sanitario: se establece Brucelosis humana como "enfermedad de notificación obligatoria" (12).

Desde el año 1991 se implementó el diagnóstico serológico, basado en la detección de anticuerpos. Según las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud, no es posible realizar el diagnóstico de brucelosis con una sola prueba serológica. Se mencionan las metodológicas sugeridas son: Reacción de Huddleson (PRP), Rosa de Bengala (RB o card test), Técnica de aglutinación con antígeno tamponado (BPA), Aglutinación lenta en tubo (SAT), Prueba de aglutinación 2-mercaptoetanol (2-ME); y la Reacción en cadena de Polimerasa (RCP) (13).

En Argentina en un estudio realizado a 562 estudiantes y veterinarios graduados entre 1964 y 2008 que residían en áreas rurales) la densidad de incidencia fue 19.5%; el periodo de mayor incidencia fueron los años próximos a la graduación, con una incidencia acumulada de 41.1% a los 20 años de profesión (14).

En Ecuador no se cuenta con un sistema de control de enfermedades zoonóticas, a pesar de esto se estima que 1.92% a 10.62% del ganado

bovino se encuentra infectado y se sabe que unos promedios de 12 casos en humanos son reportados cada año; en los años aproximados entre 1996 - 2008 (15).

En Brasil el estudio publicado en el año 2015 menciona que las personas infectadas por *Brucella* spp, están comprendidas entre 20 a 64 años, con una media de 41,8. En cuanto a la ocupación, 9 (45 %) amas de casa, 2 (10%) técnicas de enfermería, 2 (10%) agentes comunitarios de salud; 1 (5%) jubilados, 1 (5%) empleada doméstica, 1 (5%) agente administrativo, 1 (5%) secretaria, 1 (5%) trabajadores rurales, 1(5%) servicios generales de limpieza e 1 (5%) artesanías. Dentro de las sintomatologías declaradas, la mayoría presentaba cefalea, malestar general, sudoración profusa, pérdida de peso, fatiga y fiebre irregular (16).

El objetivo del trabajo es caracterizar a la población con diagnóstico de brucelosis que consultó en el Instituto de Medicina Tropical, y describir los porcentajes de positividad de los diferentes métodos de laboratorio, en el periodo 2017 al 2019.

MATERIALES Y METODOS

Se realizó un estudio de tipo descriptivo y de corte transverso. Se basó en el análisis de 44 pacientes con diagnósticos de Brucelosis confirmados por estudios serológicos y/o bacteriológicos, que consultaron en el Instituto de Medicina Tropical (IMT), durante el periodo mayo del 2017 a mayo del 2019.

Fueron excluidos los pacientes con sospecha de Brucelosis, sin confirmación laboratorial. Se utilizó un cuestionario para el levantamiento de la información desde las historias clínicas con las siguientes variables: edad y sexo, procedencia, variación estacional, signos y síntomas, profesión y/o ocupación, métodos diagnósticos específicos.

Análisis estadísticos: Los datos fueron codificados. Se elaboró la base de datos en una planilla Microsoft Excel 2016, se aplicó métodos de estadística descriptiva, como Distribución de frecuencias, medidas de tendencia central (media, mediana y modo).

Asuntos Éticos: Los cuestionarios fueron analizados en forma anónima, garantizando la privacidad de los pacientes.

RESULTADOS

Fueron analizadas 44 historias clínicas ingresadas a un Consultorio de Zoonosis en el periodo de 2 años.

El rango de edad de los 44 pacientes, estuvo comprendido entre 7 a 61 años, con una media de 29 años de edad, una mediana de 24 y una moda de 22. Se hace la aclaración que la alta frecuencia en la década de 21 a 30 años se relacionó con el accidente laboral de los estudiantes en la Facultad de Veterinaria, con predominio en la edad de 22 años.

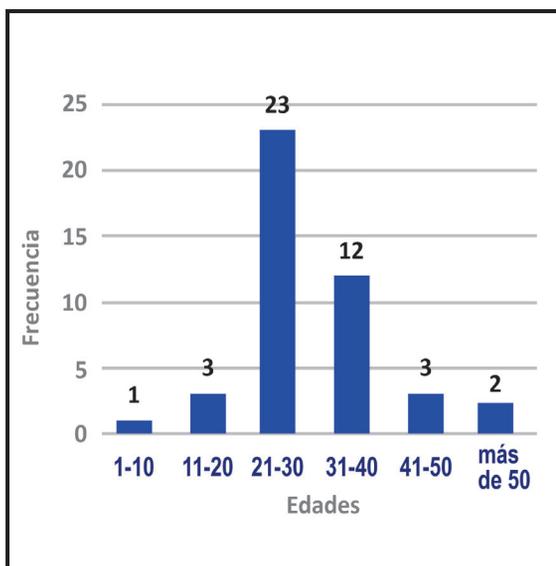


Gráfico 1. Frecuencia de Brucelosis según grupo etario IMT- 2017-2019. N=44. **Fuente:** Historias clínicas del IMT.

De los 44 pacientes 29 correspondió al sexo masculino (65,91 %) y 15 pacientes al sexo femenino (34,09 %). (Gráfico 2)

Según procedencia de los pacientes por Departamento: 3 casos fueron del Departamento de Boquerón, 4 del Dto. Presidente Hayes, 3 del Dto. Concepción, 3 del Dto. San Pedro, 1 del Dto. de Cordillera, 1 del Dto. de Paraguari, 1 del Dto. de Itapuá. Si bien en el Departamento Central y Asunción en todas las ciudades hubo casos, los 20 casos de la Facultad de Veterinaria ubicada en San Lorenzo, marco el aumento en dicha ciudad. (Gráfico 3)

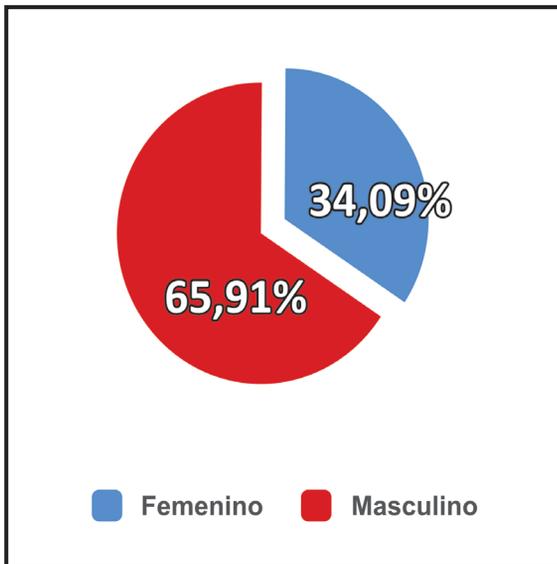


Gráfico 2. Porcentaje según sexo de los pacientes con Brucelosis IMT- 2017-2019. N=44.



Gráfico 3. Procedencia de paciente con diagnóstico de Brucelosis según Departamento IMT- 2017-2019. N=44. **Fuente:** Historias clínicas del IMT.

Si bien el último trimestre del año fue el más afectado, tiene que ver con el episodio ocurrido en la Facultad de Veterinaria entre octubre, noviembre y diciembre del 2017, que afectó

a un grupo importante de estudiantes en la Facultad de Veterinaria de San Lorenzo, que representó un total de 20 casos positivos de los 34 detectados. (Gráfico 4)

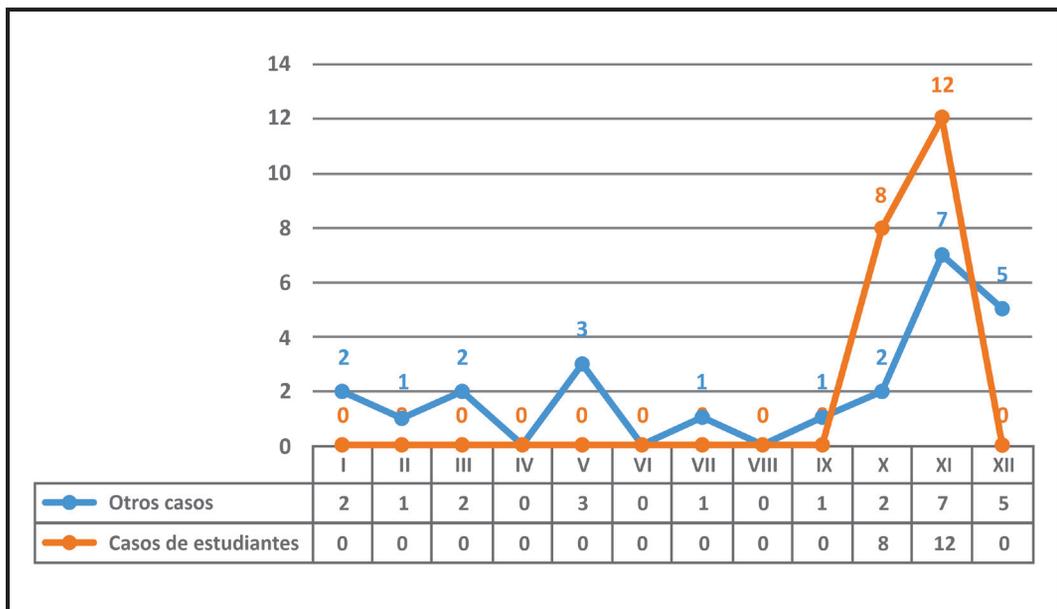


Gráfico 4. Distribución estacional de casos de Brucelosis según mes de diagnóstico IMT- 2017-2019. N=44. **Fuente:** Historias clínicas del IMT.

El 25 % de los pacientes (11) requirieron internación por presentar síndrome febril prolongado y dolores articulares intensos. La sintomatología variada fue principalmente

en los casos internados de: Síndrome febril principalmente nocturno, dolor de rodilla, tobillo, artritis de cadera, y/ o descenso de peso. (Tabla 2)

Síntomas	Frecuencia Absoluta
Astenia	24
Mialgias	20
Fiebre	20
Sudoración	15
Artralgias (cadera, rodilla tobillo)	15
Cefaleas	22
Malestar digestivo	10
Descenso de peso	10

Tabla 2. Frecuencia Absoluta de Síntomas de paciente con Brucelosis IMT- 2017-2019. N=44. **Fuente:** Historias clínicas del IMT.

Entre los estudiantes de veterinaria 20 (45,6%) resultaron positivos por contacto con cabras positivas en el campo de práctica; faenadores 11 (25%); veterinarios 6 (13.6%), ordeñadores

2 (4,5%), por ingesta de leche sin pasteurizar 2 (4,5%), técnico veterinario 2 (4,5%) y por inóculo vacunando 1 (2,3%). (Tabla 3)

Ocupación/profesión	Frecuencia	Porcentaje
Estudiantes de Vete SL (contactos)	20	45,6
Faenador de animales / trabajos rurales	11	25.0
Veterinario	6	13,6
Consumidor de leche de vaca	2	4,5
Ordeñador de vacas manualmente	2	4,5
Técnico veterinario	2	4,5
Inoculo vacunando por Vacunador	1	2,3
Total	44	100,0

Tabla 3. Frecuencia Absoluta y Relativa según Profesión/Ocupación de paciente con Brucelosis - IMT- 2017-2019. N=44. **Fuente:** Historias clínicas del IMT.

Para el diagnóstico se realizaron al 100% de los pacientes métodos serológicos, y solo por métodos directos: mielocultivo y/ o hemocultivo a 19 pacientes.

Las diluciones más frecuentes de la Reacción de Hudlesson oscilaron entre 1/100 y 1/200. Los valores muy altos 1/1280 y 1/512 fueron de los pacientes que necesitaron internación. (Tabla 4 y 5). Con la Prueba de Rosa Bengala y BPA: de los 44 pacientes 34 dieron positiva, el resto no registraron el dato.

Las diluciones más frecuentes de la Prueba de Aglutinación oscilaron entre 1/50 y 1/200. Con

un máximo de 1/6400 y mínimo de 1/25.

Las diluciones de la Prueba de Aglutinación 2 Mercaptoetanol oscilaron entre 1/25 y 1/1600. 20 pacientes dieron negativo a la prueba. (Tabla 6)

Solo 3 pacientes se realizaron **Mielocultivo:** siendo positivo a los 21 días de la siembra: en ellos se informó *Cocobacilos Gram negativos*. Y 16 **Hemocultivos** realizados: en 3 solo se informó *Cocobacilos Gram negativos*; y en los 13 restantes se informó: *Brucella melitensis biotipo I*.

Dilución	Frecuencia	Porcentaje
1/1280	1	2,3
1/512	1	2,3
1/400	1	2,3
>1/200	2	4,5
1/200	8	18,2
1/125	1	2,3
1/100	8	18,2
1/50	6	13,6
1/25	6	13,8
S/D	10	22,7
Total	44	100,0

Tabla 4. Frecuencia Absoluta y Relativa según diluciones con la Reacción de Huddleson- IMT- 2017-2019 N=44. **Fuente:** Historias clínicas del IMT.

Dilución	Frecuencia	Porcentaje
1/6400	1	2,3
1/1600	1	2,3
1/400	1	2,3
1/200	10	22,7
1/100	5	11,4
1/50	9	20,5
1/25	4	9,1
S/D	13	29,5
Total	44	100,0

Tabla 5. Frecuencia Absoluta y Relativa según diluciones con la Prueba de Aglutinación SAT-IMT- 2017-2019. N=44. **Fuente:** Historias clínicas del IMT.

Dilución	Frecuencia	Porcentaje
1/1600	1	2,3
1/800	1	2,3
1/200	2	4,5
1/125	1	2,3
1/100	2	4,5
1/50	3	6,8
1/25	1	2,3
negativo	20	25,0
S/D	13	29,5
Total	44	100,0

Tabla 6. Frecuencia Absoluta y Relativa según diluciones con la Prueba de aglutinación 2 Mercaptoetanol- IMT- 2017-2019. N=44.

Fuente: Historias clínicas del IMT.

DISCUSION

En la mayoría de los países pobres, la poca inversión en servicios de sanidad animal y la estrecha relación entre humanos y animales, hace que la Brucelosis siga siendo una infección vigente, algunas veces detectada en su fase Aguda con floridas sintomatologías, o con frecuencia solo detectada por serología (2).

En nuestro estudio, el sexo masculino fue el más afectado, con el 69,91 % de los casos. El registro del Brasil, se concentra en las edades laboralmente activas de la vida, alrededor de los 41,8 años, y la casi inexistencia de casos pediátricos (16). Estos datos se deben posiblemente al predominio del factor de riesgo profesional. En nuestra serie la moda fue de 22 años, debido al accidente ocurrido en Facultad de Veterinaria Nacional en el 2017, afectando a los estudiantes de 3er y 4to curso en las prácticas de grado de la facultad. Y se constató 1 caso pediátrico de 7 años.

La distribución estacional de casos presenta una distribución característica y diferenciada de la de otras series de otros países y que puede considerarse ligada al ciclo reproductivo del ganado 10. Destaca la drástica disminución de casos durante el verano, para aquellos de contacto directo, máxima en el mes de agosto, y los picos de otoño-inicio de invierno y primavera relacionados con los partos del ganado y la diseminación de *Brucella* en el medio ambiente. En cambio, aquellos de contagio indirecto, la presentación de casos durante el año es más constante y se pueden llegar a producir incrementos durante el verano. En nuestro estudio se concentró en el último trimestre del año, que, aunque el aumento tuvo un alza por los estudiantes de veterinaria igual fue el trimestre con mayor frecuencia. La prevalencia del factor de riesgo ocupacional y del mecanismo de contagio directo es muy superior a la de otros estudios en que prevalece el mecanismo de contagio indirecto y un elevado porcentaje de casos de mecanismo desconocido.

En cuanto a la sintomatología, la literatura caracteriza a la brucelosis como una

enfermedad de clínica diversificada, entre los síntomas que se observan: fiebre continua, astenia, fatiga, cefalea, sudor profuso, y pérdida de peso. Nuestra frecuencia mayoritaria tuvo fiebre, astenia y mialgias, pero como en el anterior los síntomas se encuentran presentes. El reconocimiento de la brucelosis como enfermedad humana se vuelve complejo, justamente por el hecho de la no ser específico los síntomas, por lo que se hace necesario pensar en ello en grupos de riesgo y, confirmar con el diagnóstico laboratorial.

La mayor incidencia de casos coincidió con estudiantes de veterinaria y trabajadores de frigoríficos y /o áreas rurales, por lo que se deduce que en esta serie de casos la mayoría de los casos ha sido contactos directos, más que por ingestión de productos animales.

Las Pruebas para diagnóstico de Brucelosis se deben interpretar en combinación con la clínica. Un resultado negativo de las pruebas bacteriológicas no descarta la infección; y un resultado positivo tiene una sola interpretación. Un resultado negativo serológico con una sola metodología no descarta la infección; por eso siempre se debe realizar la batería de estudios serológicos en conjunto con los datos clínicos y epidemiológicos (14). En nuestro estudio, las muestras serológicas por reacción de *Huddleson* fueron 77.3 % positivas entre diluciones entre 1/50 a 1/200; Aglutinación en tubo (SAT) 31 (70.5 %) fueron muestras positivas; aglutinación con 2 mercaptoetanol (2-ME) 25,4 % muestras positivas. Se llegó a la identificación de cepas *Brucella melitensis* biotipo 1: en 13 pacientes. Se debería en todos los casos llegar a la identificación de cepas para poder relacionar los factores de riesgo en los diferentes ambientes epidemiológicos. Todos estos Porcentaje fueron mayores que con el estudio realizado en Paraguay en el año 2000 en la Cátedra de Microbiología UNA, donde se halló 13,6 % para reacción de *Huddleson*; 8,5 % para SAT, 1,3 % para 2-ME.

A pesar de ser una enfermedad de notificación obligatoria, son muy escasos los reportes encaminados a establecer la especie de *Brucella*. Se sabe que la sub-notificación de

esta enfermedad en humanos es alta, lo que se ha evidenciado a partir de estudios de seroprevalencias en donde en lugares con baja notificación de casos de brucelosis tienen una seropositividad alta en su población. Queda evidenciado en el estudio realizado en la Cátedra de Microbiología de seroprevalencia en frigoríficos de Asunción y gran Asunción, con positividad de los trabajadores de 13,9 % (7). En el estudio efectuado en Colombia, indica prevalencia para *Brucella spp* del 4,4% en humanos. De acuerdo con la literatura científica, se entiende que la incidencia de la brucelosis puede ser de hasta cinco veces mayor, debido a la sub notificación y al difícil diagnóstico. En Argentina la incidencia en una población de estudiantes de veterinaria fue de 19,5 %, considerando que es una población de riesgo.

Como limitaciones del presente estudio, se puede mencionar el hecho de que los individuos pertenecieron a un grupo de pacientes que consultaron en uno de los consultorios de zoonosis.

CONCLUSION

La Brucelosis humana es una infección vigente, fundamentalmente por contacto directo debido a razones profesionales y /o laborales. Los casos analizados, posiblemente adquirieron la bacteria durante el contacto con animales. Y unos pocos manifestaron haber consumido leche. Los estudiantes de veterinaria son catalogados como personal de alto riesgo para esta zoonosis.

El hecho que exista casos humanos es porque existen casos animales; y esto nos lleva a pensar que las vacunaciones animales no se realizan como esta descrito en las leyes que reglamentan la patología. Además, es una infección que conlleva un reto diagnóstico para el médico, ya que el cuadro clínico es inespecífico y una batería de laboratorio compleja de interpretar.

Esta vigencia de infección tiene que ver fundamentalmente a una situación endémica

en el ganado, y por tanto se deberán intensificar las medidas del saneamiento del ganado (vacunación) y la educación de la población de riesgo para adopción de medidas de protección contra la infección.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Pappas G, Papadimitrou P, Akritidis N, Christou L et al. The new global map of human brucellosis. *Lancet Infect Dis* 2006; 6: 91-99.
2. Madigan, Martinko, Parker. Brock. Biología de los Microorganismos. 14 edición. GRAFILLES. España. 2015. 59-63
3. De Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología Médica. Manual Moderno. 26 Edición. México, DF-Santa Fé Bogotá. 2014.199-203. ISBN 9786071511355
4. Murray Patrick R., Rosenthal Ken S, Puer Michael A. Microbiología Medica Basica. Madrid. España. Elseiver. 8va edición 2013. 310-317.
5. Basualdo Juan, Coto Celia, Torres Ramon. Microbiología Biomedica. Atlante SRL. Argentina. 2006. 2da edición. 348-349.
6. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. Dirección General de Vigilancia de la Salud. Guía Nacional de Vigilancia y Control de Enfermedades Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Paraguay. 2015. 37-43.
7. Dirección de Epidemiología - Ministerio de Salud de la Nación. Enfermedades Infecciosas Brucelosis Diagnóstico Guía para el Equipo de salud. Cdad. Autónoma de Bs. As., República Argentina. Nro. 12 ISSN 1852-1819. 2013. 5-6.
8. Dirección General de Salud de las personas. Dirección ejecutiva de atención integral de salud. Norma técnica de diagnóstico y tratamiento de brucelosis humana. Ministerio de Salud. Perú. 2015. 10-13.
9. Camacho Martínez JC. Laboratorio de Zoonosis San Luis Potosi. Col Abasto SLP. 2015.10-12. www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/zoonosis/descargas/pdf/DiagnosticoBrucelosisHumanaLaboratorio.pdf.
10. Servicio Nacional de Calidad y Salud Animal (SENACSA). Reglamentación del Programa Nacional de Control, Prevención y Erradicación de la brucelosis. <http://www.bacn.gov.py/leyes-paraguayas/2475/ley-n-675-crea-el-servicio-nacional-de-salud-animal-senacsa>.
11. Bogado Emanuel; et al. Brucelosis en grupos de Riego en Paraguay. Rev. Catedra de Microbiología. FCM-UNA.

Asunción Paraguay. 2000.03-10.

12. Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica. Casos por entidad federativa de enfermedades zoonóticas hasta la semana epidemiológica 52 del 2007. Dirección General de Epidemiología de la Secretaría de Salud de los Estados Unidos Mexicanos.
13. Guzmán-Hernández R., Contreras-Rodríguez A., Ávila-Calderón E., Morales-García M. Brucelosis: zoonosis de importancia en México. Revista Chilena de Infectología. Vol 33. Santiago. 2016. ISSN 0716-1018.
14. Laplume H; ad et. Guía Medica Brucelosis. Dirección de Epidemiología - Ministerio de Salud de la Nación. Cdad. Autónoma de Bs. As., República Argentina. 2013; 10-13
15. Ron Roman J, et al. Brucelosis humana en el nor-oeste del Ecuador: prevalencia, tipificación de *Brucella* sp., y factores de riesgo. Quito. Ecuador. 2009. 10-12.
16. Oliveira Cavalcanti Soares P. Prevalencia de la *Brucella* spp en humanos. Revista Latino-Americana de Enfermagem . Vol.23 N°.5. 2015. 4-5. www.eerp.usp.br/rlae.