



UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE MEDICINA  
ESCUELA DE POSTGRADO

“SEROCONVERSIÓN A BRUCELLA EN ESTUDIANTES DE  
VETERINARIA EN LA REGIÓN DE VALDIVIA”

**MARÍA LORETO BURNIER ALLENDE**

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE MAGISTER EN CIENCIAS MÉDICAS  
MENCIÓN EPIDEMIOLOGÍA CLÍNICA

Director de Tesis  
DR. HÉCTOR GATICA

SANTIAGO – CHILE

2011

**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE MEDICINA  
ESCUELA DE POSTGRADO**

**INFORME DE APROBACION TESIS DE MAGISTER**

Se informa a la Comisión de Grados Académicos de la Facultad de Medicina, que la Tesis de Magister presentada por el candidato

**MARÍA LORETO BURNIER ALLENDE**

ha sido aprobada por la Comisión Informante de Tesis como requisito para optar al Grado de **Magister en Ciencias Médicas** con **mención en Epidemiología Clínica** en Examen de Defensa de Tesis rendido el día 21 de Septiembre del 2011.

**Dr. Héctor Gatica R.  
Director de Tesis  
Presidente De la Comisión**

**COMISION INFORMANTE DE TESIS**

**E.U. VERÓNICA NASABÚN**

**DR. Q.F. ARIEL CASTRO**

**DR. VICTOR MELLADO**

*Este trabajo está dedicado  
a mi marido,  
a mi madre  
a mí misma.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Me gustaría agradecer a las personas que me ayudaron en la realización de este trabajo de forma desinteresada: Dr. Rafael Araos, Srta. Romina Millacan, secretaria del Dr. Gatica, Sra. Rosa Oyarzún, secretaria de la Escuela de postgrado, al Dr. Leonardo Vargas, director de Escuela de Veterinaria de la Universidad Austral y a su secretaria la Srta. Marcela Matus, al profesor Germán Reinhart, al Dr. Mario Calvo, a la E.U. Silvia, al Dr. Estefan Danilla, a la EU Rita Molina, a la Tecnólogo Médico Cynthia Gárate y a todo el personal del laboratorio de microbiología de la Universidad Católica y, en especial, a la Dra. Mónica Hering y su marido, el Dr. German Egers y toda su familia que me hospedaron en su casa y me hicieron sentir como si fuera la mía durante mi estadía en Valdivia.

## **FINANCIAMIENTO**

Este trabajo está patrocinado por el concurso de fondo interno del Departamento de Laboratorio Clínico de la Escuela de Medicina de la Pontificia Universidad de Católica de Chile ganado por la Dra. Patricia García que estaba destinado a estudiar la prevalencia de Brucelosis en poblaciones de alto riesgo. Este trabajo no es parte, ni está anidado en otra investigación.

Además cuenta con la aprobación de la Escuela de Veterinaria de la Universidad Austral de Chile y la ayuda de la Escuela de Medicina de esa misma universidad.

## INDICE

Resumen.....	iii
Abstract.....	iv
I. Introducción .....	1
1. Importancia y magnitud del problema .....	1
2. Etiopatogenia .....	1
3. Epidemiología .....	3
4. Cuadro Clínico.....	4
5. Diagnóstico .....	4
6. Chile.....	6
III. Hipótesis.....	8
II. Objetivos.....	9
IV. Metodología.....	11
1. Búsqueda Bibliográfica.....	11
2. Diseño del estudio .....	12
3. Determinación del tamaño muestral .....	17
4. Definición de variables.....	17
5. Estadística.....	20
6. Principios éticos.....	20
V. Resultados .....	22
VII. Discusión.....	25
VIII. Conclusiones.....	33

Bibliografía.....	35
Figuras .....	41
Tablas.....	45
Gráficos.....	50
Anexos.....	51

## RESUMEN

**INTRODUCCIÓN:** La brucelosis, la zoonosis más común del mundo, es causada por un bacilococo gram negativo denominado *Brucella*. Su cuadro clínico es inespecífico y requiere una alta sospecha, afectando principalmente a veterinarios y personal relacionados con productos derivados de los bovinos. En Chile se considera una enfermedad ocupacional, tiene una prevalencia relativa de entre 4 y 24% y seroprevalencias en veterinarios del 10% al 70%, asociados a un bajo uso de las medidas preventivas.

**METODOLOGÍA:** se realizó una cohorte a estudiantes de medicina veterinaria, se recogió información relacionada con variables epidemiológicas, y se les tomó muestras de sangre para determinación de IgG para *Brucella* y grupo sanguíneo.

**RESULTADOS:** se obtuvo un total de 93 encuestas –todas incompletas- y 93 sueros para el análisis. El 70% de los alumnos que participaron de este trabajo estaban cursando semestres no prácticos, presentaban una edad promedio de 21,5 años (+/- 2,12 años) y el 64% eran mujeres. El 81,8% vivía en zonas urbanas, principalmente en la décima región. Sólo el 90% decía conocer la *Brucella*, un tercio (29%) de los alumnos contestó haber tenido contacto con animales enfermos, pero la mayoría de ellos (63,6%) en una sola oportunidad. Sólo el 33,3% reportó haber usado medidas preventivas. El promedio de los valores de ELISA para todos los semestres fue de 1,24 unidades de densidad óptica (+/- 0,54). No se observaron diferencias en los resultados del ELISA entre los semestres estudiados. El análisis estadístico tampoco mostró una tendencia en la regresión lineal.

**CONCLUSIONES:** No se encontró seroconversión a *Brucella* durante la carrera de veterinaria ni relación con conductas de riesgo o variables biológicas.

## **ABSTRACT**

**INTRODUCTION:** Brucellosis, the world's most common zoonoses, is caused by *Brucella*, a gram negative bacillococcus. It has a nonspecific clinical presentation and requires a high suspicion, mainly affecting veterinarians and personnel related with products derived from cattle. In Chile it is considered an occupational disease, has a relative prevalence of 4 to 24% and a seroprevalence in veterinary workers of 10% to 70%, associated with low use of preventive measures.

**OBJECTIVES:** To study the seroconversion by IgG ELISA in veterinary students in a region of high prevalence and to identify variables related to the modes of transmission.

**METHODOLOGY:** We conducted a cohort of veterinary students, information about epidemiological variables was collected, and blood samples were taken to determinate the blood group and the presence of IgG antibodies directed against *Brucella* and blood group.

**RESULTS:** We obtained a total of 93 surveys -all incomplete, and 93 sera for analysis. 70% of students who participated in this work were enrolled in non-practical semesters, had an average age of 21.5 years (+ / - 2.12 years) and 64% were women. 81.8% lived in urban areas, mainly in the tenth region. Only 90% of the students claimed to know *Brucella*, and one third (29%) of them reported to have had contact with sick animals, most of them (63.6%) in a single instance. Only 33.3% of respondents said they used preventive measures. The average ELISA values for all semesters was 1.24 optical density units (+ / - 0.54). There were no differences in ELISA results between the semesters studied. Statistical analysis showed no trend in linear regression.

**CONCLUSIONS:** There was no seroconversion to *Brucella* in veterinary students, and no relationship was found with risk behaviors or biological variables.

## I. INTRODUCCIÓN

### 1. Importancia y magnitud del problema

La brucelosis es causada por un bacilococo gram negativo denominado *Brucella*, y es considerada la zoonosis más común del mundo [1-5]. Aunque su distribución geográfica es limitada, tanto su incidencia como su prevalencia pueden variar significativamente, siendo más común en países con un bajo nivel socioeconómico tales como los de la costa del mediterráneo, el oeste asiático, y algunas regiones de África y Latinoamérica (figura 1) [1,2,6]. Latinoamérica siempre ha sido considerada una zona endémica, debido a las altas prevalencias que existen en Perú y Argentina, de 34.9 y 8.4% respectivamente [1,2]. En el mundo se estima medio millón de casos nuevos al año, con incidencias desde 0,01 hasta 200 por 100.000 habitantes [2,3,5]. Se piensa, que estos reportes podrían estar subestimando la importancia de esta enfermedad la que tendría una incidencia real 25 veces mayor a la comunicada, y que causaría entre un 3 a un 5% de los casos de fiebre de origen desconocido en países endémicos. De hecho, en poblaciones con alto riesgo de contraer la enfermedad y con síntomas sugerentes, se ha reportado un subdiagnóstico de hasta un 88% de los casos [2-5]. Esto sucede porque su diagnóstico es difícil, ya que tiene una presentación clínica inespecífica y cambiante, se requiere un alto índice de sospecha y exámenes específicos confirmatorios. A esto se le suma que la brucelosis no es una enfermedad de notificación obligatoria en muchos países, especialmente en los países en vías de desarrollo [2-7,11-14].

### 2. Etiopatogenia

El género *Brucella* comprende 6 especies, y tanto su denominación como las manifestaciones clínicas van a depender del huésped (tabla 1) [3, 7-10,15]. Como ya

se mencionó, la *Brucella* es un bacilococo gran negativo, no móvil, de crecimiento lento y no formador de esporas, catalasa positivo, oxidasa y ureasa variable. El lipopolisacárido (LPS) presente en su membrana externa es un gran inductor de la respuesta inmune, pero un activador débil de la vía del complemento, esto se traduce en una disminución de la fagocitosis. Éstas características le permiten a la *Brucella* una adherencia a los polimorfonucleares, formando activamente el fagosoma e impidiendo la ingestión por parte del leucocito, quedando así protegido en vacuolas lejos de la actividad inmunológica y de la acción de los antibióticos. Todo esto, junto a su capacidad de inhibir la apoptosis en la célula huésped, daría cuenta, al menos en parte, de las manifestaciones clínicas inespecíficas, la tendencia a la cronicidad y el difícil diagnóstico de esta patología [5-8,15].

Luego de que un animal ha ingerido la *Brucella*, ella se propaga por el torrente sanguíneo y linfático hacia el hígado, bazo, genitales y la placenta; en esta última alcanza concentraciones de hasta 10 billones por gramo, lo que produce placentitis y abortos [16]. Así el microorganismo es eliminado por la leche y deposiciones del animal enfermo, infecta al personal ganadero y veterinario que asiste a los abortos y, de esta manera, contamina al medio ambiente (tabla 2).

De lo anterior, se pueden distinguir varias vías de infección (tabla 3), las que se pueden sistematizar en dos principales [6,7,10,16]:

- **Vía Directa:** se produce por contacto (abrasiones o lesiones en piel), inoculación o inhalación de productos contaminados, donde la *Brucella* es capaz de vivir por largo tiempo (tabla 2).
- **Vía Indirecta:** secundaria a la ingestión de leche o sus derivados contaminados como el yogurt, queso, queso fresco, etc.

Esto, a su vez, permite caracterizar dos patrones epidemiológicos distintos:

- **Patrón rural-laboral:** por exposición del profesional al ganado infectado, ya sea por contacto o inhalación.

- **Patrón urbano-alimentario:** por consumo de leche cruda y sus derivados.

### **3.- Epidemiología**

Como dijimos anteriormente, la brucelosis afecta principalmente a países subdesarrollados, con incidencias que se estiman entre 0.01 a 200 por 100.000 habitantes dependiendo de la zona geográfica [2,3,5]. En países desarrollados, debido a la implementación de medidas de prevención poblacional, como el uso de vacunas en el ganado, cuarentena de predios infectados, disminución del riego con aguas servidas y educación sobre el consumo de productos lácteos, se describe un patrón urbano-alimentario y un aumento del patrón rural-laboral, transformándose la brucelosis en una enfermedad ocupacional que afecta principalmente a veterinarios [16,23,24]. Es así como se estima prevalencias relativas entre 4 y 24% en carniceros, pastores, trabajadores relacionados con productos derivados de la leche y en personal de laboratorios y mataderos [2-9,11,13,14,17-24].

Los factores de riesgo más frecuentemente identificados son: cantidad de animales enfermos vistos, tiempo de contacto con los animales, familiares de personas enfermas (hábitos alimentarios) y edades entre los 34 y los 50 años (que puede ser sustitutos del tiempo de exposición y del contacto con los animales) [4, 10, 12, 13, 14, 17-19, 25]. Con respecto al sexo, no se observa una clara asociación, pues aunque algunos artículos describen un aumento en la frecuencia en hombres [3,10,17-19], esto se podría explicar por el hecho que estos profesionales suelen ser preferentemente de sexo masculino [12,13,19,27].

#### **4. Cuadro clínico**

En humanos, la brucelosis suele presentarse de forma inespecífica, y al igual que la sífilis y la tuberculosis se la ha denominado “la gran imitadora”. Se caracteriza por fiebre ondulante asociada a compromiso del estado general, sudoración, anorexia y fatiga; los exámenes de laboratorio son inespecíficos observándose signos de anemia, leucopenia leve con linfocitosis relativa, y trombocitopenia atribuida al hiperesplenismo [3-7, 9-10, 12, 16, 27]. En la tabla 4 se describen los signos clínicos principales y las frecuencias encontradas por diferentes autores. Las complicaciones, que se observan en pacientes que no han sido tratados, van desde la focalización hasta la muerte. La focalización se observa en el 32% de los pacientes que llevan más de 30 días de evolución y las formas más habituales son la artritis (sacroileitis y espondilitis), orquitis, osteomielitis y endocarditis entre otros. La letalidad se estima alrededor del 2% [3, 4, 6-10, 27].

La brucelosis se puede clasificar según el tiempo de evolución en aguda (<2 meses), subaguda (2 a 6 meses) y crónica (> 6 meses) [6,7].

#### **5. Diagnóstico**

Frente a la sospecha clínica se debe realizar siempre una encuesta epidemiológica acerca del consumo de productos lácteos sin pasteurizar, contacto con animales enfermos o viajes a zonas endémicas, los exámenes de laboratorio de primera línea son inespecíficos y no colaboran al diagnóstico [5,8,12,14,27]. El gold estándar para

el diagnóstico, al igual que para todas las enfermedades infecciosas, es el cultivo, pero por las características de esta enfermedad, este examen tiene una baja sensibilidad, especialmente en las etapas más crónicas. La sensibilidad del cultivo en brucelosis aguda es de alrededor del 80 a 90%, mientras en cuadros crónicos es del 30 al 70%, estimándose un promedio que fluctúa entre el 50 y el 90% [5,12,28-30]. Estos valores dependen de la etapa de la enfermedad, del uso de antibióticos previos y no se relacionan con el estado febril del paciente [5,10,30].

Debido a lo anterior, el diagnóstico suele basarse en las pruebas serológicas, cuyas sensibilidades se relacionan con las diferentes etapas de la enfermedad [3,4,6,12,18,26,28,29,31-33]. La inmunoglobulina M (IgM) aumenta en las etapas agudas de la enfermedad, aparece luego de la primera semana de exposición y llega al máximo a la cuarta semana, pudiendo durar hasta 12 meses en el 20% de los pacientes. La IgG en cambio, comienza a aparecer luego del primer mes y puede persistir por 2 a 3 años; así, el 28% de los pacientes persisten con anticuerpos positivos luego del segundo año, se describe una cura serológica alrededor de los 18,5 meses. Esta variación depende de la edad, sexo, uso de más de tres antibióticos en su tratamiento y la mantención del contacto con la *Brucella* [7, 10, 33].

Para establecer el diagnóstico en los casos agudos se utiliza como prueba de tamizaje el test de Rosa de Bengala (RB) y la confirmación definitiva del diagnóstico depende del cultivo y/o la seroaglutinación en tubo (SAT), siendo la sensibilidad promedio de RB y SAT de 84,6% [5]. En zonas endémicas, en portadores de brucelosis crónicas y en reinfecciones los exámenes antes descritos pierden sensibilidad, ya que existe la necesidad de aumentar el punto de corte para mantener la especificidad [3-5, 28, 34-37]. En estas poblaciones se puede usar el 2-mercaptoethanol (que disminuye la reacción cruzada de IgM en el SAT), el test de Coombs y ELISA para IgA, IgG e IgM. La literatura destaca que la determinación de IgG por ELISA puede llegar a tener una sensibilidad de 81-99% y una especificidad

cercana al 100%, además de ser una técnica de fácil realización y estar más estandarizada que las otras opciones [3, 5-6, 8,11-12, 26, 34, 38, 39]. En la tabla 5 se muestran diferentes tasas de seropositividad según la etapa de la enfermedad [6].

Los falsos positivos pueden estar dados por las reacciones cruzadas con las otras bacterias que presentan el antígeno O en su membrana, como *E. coli*, *Y. enterocolítica* y *V. cholerae*, entre otros [5-6, 16, 28, 39-41]. En este grupo de microorganismos se ha visto una asociación con el grupo sanguíneo B y Rh (+), la que pudiera verse también en la *Brucella*, especialmente por su particular comportamiento patogénico [42-44].

## **6. Chile**

En 1975 la prevalencia de brucelosis en bovinos alcanzó el 7%, por lo que se creó el **programa de control y erradicación de la Brucelosis**, una medida con la que se logró erradicar a la *B. melitensis* en 1987, -quedando sólo la *B. abortus* como el causante principal de brucelosis [2,45]-, y que permitió un mejor control de la enfermedad, sin que haya muertes registradas a causa de esta patología desde el año 1990 [16,24]. En 1991 la prevalencia de brucelosis bovina había disminuido al 2,4%, pero la incidencia en los seres humanos se mantenía en 0,21/100.000 hbts, por lo que Servicio Agropecuario y Ganadero (SAG), mejoró el programa de erradicación de la brucelosis bovina mediante la vacunación de animales, cuarentena de los predios infectados, control de las aguas servidas y educación de la población general para disminuir la ingestión de productos contaminados; todas estas intervenciones lograron disminuir la prevalencia de brucelosis humana a 0,06/100.000 habitantes en 2007, valores que, como lo decíamos, pueden estar subestimados por la falta de sospecha diagnóstica [1,2,7,24,45].

Con estas intervenciones, la brucelosis adopta un “patrón rural-laboral” y se crea la ley 16.744 en la que se considera como una enfermedad ocupacional de notificación obligatoria, donde los enfermos deben ser tratados conforme a lo dispuesto en esa ley [16,24]. En Chile, las poblaciones en riesgo son los veterinarios y trabajadores agropecuarios expuestos, en las que se observa una seroprevalencia entre 10% y 70% [11,16, 20, 24]. Los afectados suelen ser mayoritariamente del sexo masculino, con edades entre los 14 y 44 años, principalmente entre los 29 y 39. [12,16].

En Chile se observa una menor frecuencia de *Brucella* que lo descrito a nivel internacional y latinoamericano. Esto se podría explicar por nuestra geografía, que nos mantiene aislados de las epidemias, al buen control de la *Brucella* implementado por los programas nacionales y/o la notificación obligatoria de la enfermedad. También se ha conjeturado que en este fenómeno intervendrían factores biológicos que pudieran favorecer o disminuir la probabilidad de enfermarse, tales como la expresión de ciertos antígenos eritrocitarios que alterarían la patogenicidad de algunos microorganismos. Se sabe que Chile presenta una distribución de los grupos sanguíneos particular (Tabla 6), posiblemente debido a factores étnicos y al mestizaje, por lo que medir estas variables podría ayudarnos a caracterizar la población nacional que presenta mayor probabilidad a enfermarse.

En resumen, la *Brucella abortus* es considerada una enfermedad ocupacional en Chile, que afecta principalmente a médicos veterinarios y personal ganadero. Las medidas preventivas son conocidas por la población en riesgo, pero su implementación no siempre es llevada a cabo. El presente trabajo es realizado para pesquisar seroconversión, por medio de ELISA IgG, en alumnos de medicina veterinaria en una región de alta prevalencia, además de identificar las principales formas de contagio que nos permitan diseñar medidas de prevención más eficaces en este grupo.



## **II. HIPÓTESIS**

### **1. Primaria:**

Durante la carrera de veterinaria los alumnos presentarán una seroconversión a *Brucella*, especialmente a partir del quinto semestre, cuando empieza la exposición.

### **2. Secundaria:**

Variables biológicas como grupo sanguíneo B y Rh (+) se asocian a mayor seroconversión.

### **III. OBJETIVOS**

#### **1. Objetivos generales**

1.- Determinar las tasas de seroconversión a *Brucella abortus* en estudiantes de medicina veterinaria de la zona sur de Chile a lo largo de sus estudios universitarios de pregrado.

2.- Relacionar factores biológicos (grupo sanguíneo, etnia) de la población estudiada con la seroconversión, independientes del factor de exposición.

#### **2. Objetivos específicos**

1.- Describir las características de la población de riesgo estudiada, que corresponde a los alumnos de medicina veterinaria que estén cursando el primer, tercer, quinto, sexto, octavo y décimo semestre de sus estudios.

2.- Determinar las tasas de seroconversión de los alumnos de medicina veterinaria que estén cursando el primer, tercer, quinto, sexto, octavo y décimo semestre de sus estudios.

3.- Comparar las tasas de seroconversión de los alumnos de medicina veterinaria que estén cursando el primer, tercer, quinto, sexto, octavo o décimo semestre de sus estudios.

4.- Comparar las tasas de seroconversión en los alumnos que están cursando semestres sin actividades prácticas con aquellos que están en semestres que incorporan actividades prácticas.

5.- Establecer si existe una relación entre la seroprevalencia y factores biológicos como:

- Antígenos eritrocitarios del grupo ABO y Rh
- Etnicidad

6.- Determinar los principales factores de exposición asociados con la seroconversión durante la carrera.

7.- Cuantificar la avidéz de los anticuerpos en los diferentes grupos que presenten las etapas de la enfermedad: activa, crónica y tratada.

## **IV. METODOLOGÍA**

### **1. Búsqueda bibliográfica**

La búsqueda bibliográfica se realizó a partir de noviembre del 2007, ocupando como buscadores principales Pubmed, Scielo y Cochrane. Para conocer la enfermedad, su etiopatogenia, los grupos de riesgo y las formas y factores asociados al contagio se buscó el término “brucelosis”, para evaluar el mejor test diagnóstico necesario en la pesquisa de la enfermedad se buscó “diagnostic test and brucelosis” y para conocer la prevalencia de la enfermedad en los diferentes grupos se utilizaron los términos “prevalence and brucelosis”. Los límites que pusimos en la búsqueda fueron el idioma, utilizando artículos escritos en inglés o en castellano y la especie donde nos enfocamos sólo a la humana, no se limitó el tiempo.

Para el término “brucelosis” se encontraron 3952 publicaciones (353 reviews), para “diagnostic test and brucelosis” se encontraron 10 artículos (2 review) y para “prevalence and brucelosis” 950 (92 review). En Cochrane no se encontraron artículos relevantes en cuanto a prevalencia y en Scielo, sólo 3 artículos que no mostraban diferencias con las publicaciones en Pubmed. Por otro lado se utilizó la herramienta “scholar google”, estrategia que permitió encontrar trabajos adicionales sobre prevalencia en otros países latinoamericanos.

Se seleccionaron aquellos artículos en cuyos títulos estuviera explícitamente mencionada la prevalencia en grupos de riesgo como veterinarios, personal de mataderos, agricultores, etc; con respecto a los métodos diagnósticos se escogieron para la lectura aquellos que comparaban las técnicas convencionales que se utilizaban en Chile -aglutinación en tubo y Rosa de Bengala- con la técnica de ELISA; los casos clínicos aislados de presentaciones extraordinarias no se consideraron en

la búsqueda. Tanto para los trabajos como los abstract relevantes se utilizó el link "Related articles". Así se seleccionaron 99 artículos para la lectura de texto completo, obteniéndose sólo 67.

Los datos chilenos sobre brucelosis fueron consultados por vía telefónica al Servicio Agrícola Ganadero (SAG) en las diferentes regiones del país, estos datos estaban disponibles desde el año 2000 y se refieren al total de predios infectados, predios en cuarentena y predios saneados.

En total se revisaron alrededor de 75 referencias, de estas se utilizaron alrededor de 55 para el desarrollo de la tesis. Todo ellos fueron leídos y analizados críticamente para la utilización de sus datos. La mayoría de ellos eran grado B nivel III y para los estudios comparativos del método diagnóstico IIb y algunos IIa (tabla 7).

## **2. Diseño del estudio:**

Se realizó un estudio de cohorte con modificaciones para estudiar la seroconversión a *Brucella*, la que fue pesquisada por medio de ELISA IgG en alumnos de medicina veterinaria durante el curso de su carrera en la Universidad Austral. Esta variante a los estudios de cohorte se llevó a cabo debido lo prolongado que era el tiempo de seguimiento. A continuación se detallan las variables utilizadas y las variables modificaciones para mantener las características propias de la cohorte:

### 2.1. Selección de población

Se seleccionaron los alumnos que estaban cursando la carrera de medicina veterinaria en la Universidad Austral, se eligió esta institución ya que se encuentra en

la X región, región que tiene la mayor prevalencia de predios infectados (gráfico 1) [45]. De esta manera tenemos una población cautiva en la zona de mayor riesgo de exposición a nivel nacional.

La modificación de la cohorte se realizó por el limitante “tiempo de seguimiento”, debido a que no era posible seguir a los alumnos desde el primer semestre hasta el final de la carrera. Por eso se trabajó con los alumnos que estuviesen cursando los semestres primero, tercero y quinto (libres de exposición), y con estudiantes de sexto, octavo y décimo semestre (los cuales ya completaron gran parte de su práctica semestral). Para lograr este objetivo, se realizó una serie de medidas metodológicas que serán expuestas a continuación.

## 2.2. Homogenización de la población

Debido a que la selección es voluntaria, se realizó un pareo con las variables conocidas como factores de riesgo y que son independientes de la exposición “estudiar medicina veterinaria”; se consideraron las siguientes:

- La región donde ha vivido el estudiante, ya que diferentes regiones presentan distintas prevalencias.
- Residencia habitual en zona rural o urbana de los estudiantes, ya que presentan diferentes prevalencias.
- Existencia de casos familiares, relación que puede marcar la existencia de similares hábitos alimentarios.

Las variables sexo y edad no fueron utilizadas, ya que los estudios publicados describen que el sexo no es un factor de riesgo y el rango de edad que existe

durante la carrera universitaria no tiene mayor diferencia de prevalencia poblacional [11, 13, 14, 16].

### 2.3. Estabilidad de la enfermedad

Para este fin se consideró lo siguiente:

- Prevalencia enfermedad: Según los reportes nacionales la prevalencia de animales enfermos ha disminuido en forma constante en los últimos 5 años (gráfico 1). Para que esta variación no modificase a la variable “estudiar veterinaria” se hizo un cociente entre el total de “prevalencias positivas” por año de carrera y la tasa de enfermedad bovina máxima durante esos años, resultando una nueva tasa. Se realizó lo mismo para el total de “prevalencias negativas”. Esta nueva tasa es la que se utilizó para la comparación de prevalencia entre los diferentes años de carrera.
- Exposición a la enfermedad: La malla curricular no ha sufrido cambios en relación al tiempo, ni en el tipo de clases teóricas y prácticas en los últimos 5 años.
- Variables confundentes: Las variables de contagio por *Brucella* que pudiesen sesgar al factor “**estudiar veterinaria**” que fueron pareadas son: región de procedencia, zona rural o urbana y antecedente familiar.

### 2.4. Selección de los alumnos

La selección de los alumnos fue voluntaria, para ello, al finalizar las clases, se les explicó la utilidad del trabajo y se les invitó a participar de forma libre y sin compensaciones por medio de la firma del consentimiento informado (anexo I). Dadas las limitaciones de presupuesto, se seleccionaron 25 alumnos del primer

semestre y 27 de los semestres tercero, quinto, sexto, octavo y décimo que acudieron, por orden de llegada. Luego se les solicitó llenar una encuesta epidemiológica (anexo II) y se les tomó una muestra de sangre, para establecer su serología, avidéz y los grupos sanguíneos ABO y Rh.

## 2.5. Exámenes de diagnóstico (ELISA IgG), avidéz y grupo sanguíneo

Las muestras fueron recogidas en tubos y rotuladas con el nombre, RUT y número de encuesta del participante. Posteriormente se les realizó la pesquisa de los grupos sanguíneos y se obtuvieron los sueros por centrifugación en Valdivia, guardándose entre 2 y 8°C. Una vez en Santiago, se las procesó para la pesquisa de IgG específica por medio de la técnica de ELISA, según las normas del fabricante del kit diagnóstico **Vircell** [46], en un laboratorio centralizado (Pontificia Universidad Católica). Ésta técnica presenta buena sensibilidad (81-99%) y especificidad (99%) para la pesquisa de los anticuerpos aglutinantes como no aglutinantes [3,12,34,38].

Dado que la IgG específica está presente a partir del primer mes de la infección y hasta dos años y medio posterior a ella, es difícil definir la etapa clínica en la cual se encuentra el enfermo. Para ello se consideró la técnica de avidéz para la clasificación de la enfermedad como aguda, crónica, tratados y expuestos [7,10,33]. La **avidéz**, como ayuda diagnóstica o para etapificar la enfermedad, se realizó por primera vez por Hedman en 1989 para la rubéola. La técnica consiste en inducir la ruptura de los puentes de hidrógeno entre las IgG específicas y el antígeno, por medio de urea. Se sabe que en las infecciones agudas o recientes las IgG tienen una menor avidéz por el antígeno, y concentraciones 6M de urea sería capaz de disociar el complejo antígeno-anticuerpo, mientras que en las infecciones crónicas el complejo antígeno-anticuerpo es de mayor avidéz y la IgG permanecería unida a sus antígenos [49]. Su importancia estaría dada por la observación de que en individuos con el antecedente de contacto a *Brucella* o que son conocidos para la portación de anticuerpos, presentan cierta protección a condiciones como la inoculación accidental, en ellos se

produce una reacción local autolimitada y a veces síntomas generales, pero no desarrollan la enfermedad [7,26,41,47]. Esto podría estar relacionado al fenómeno de avidéz, aunque algunas publicaciones sugieren estar relacionados con reacciones alérgicas [7,48]. La técnica para la medición de la avidéz consiste en lavar los geles por 3 veces con una solución 6M urea y PBS con 0.05% Tween 20 [49].

Los **grupos sanguíneos** ABO y Rh, han sido relacionados con la propensión a diferentes infecciones por virus, bacterias y parásitos [42,43,44,50], especialmente con las bacterias *Yersinia*, *Salmonella* y *E. Coli*. Estas bacterias se describen como probables fuentes de reactividad cruzada en el diagnóstico de brucelosis [5,7,16,28,40]. Aunque esta relación no es clara, algunos autores señalan efectos protectores a los grupos B y Rh especialmente en las mujeres, otros han comunicado efectos deletéreos para estos mismos tipos [43,44]. Debido a los mecanismos patogénicos de la *Brucella* de autoingestión al citoplasma, algunos antígenos sanguíneos podrían servirle como receptor favoreciendo su ingreso, o la ausencia de ellos impedirían la fagocitosis.

El hemograma no será utilizado como elemento diagnóstico por tener muy poca utilidad demostrada (5,8,10,12,14,27).

## 2.6 Criterios de inclusión y exclusión

<b><i>Criterios de inclusión</i></b>	<b><i>Criterios de exclusión</i></b>
Estudiantes de veterinaria de la Universidad Austral	Presentar diarrea o tener el antecedente de contacto con resultados falsos positivos
Participación voluntaria firmada en el consentimiento informado	No sea posible la extracción de suero
Encuesta completa	Repetición de semestres prácticos (a

partir del quinto semestre)

### **3. Determinación del tamaño muestral:**

Se utilizó el programa “Tamaño de la muestra v1.1” para el cálculo de los participantes necesarios por cursos de 60 alumnos, todos los datos fueron analizados para la distribución de una cola, considerándose un error muestral del 5% y un nivel de confianza del 10%. Para el cálculo de los semestres sin actividades prácticas se utilizó la prevalencia observada en la población general de 0,05, para un total de 60 alumnos se obtuvo una muestra de 21 participantes; en el caso de los semestres con actividades prácticas, se utilizó la prevalencia observada en los grupos expuestos a riesgo en Chile, que es 0,1 [10], obteniéndose un total de 30 alumnos. Por problemas de presupuesto se seleccionaron como máximo 27 alumnos en el primer semestre ya que este es más similar a la población general, y 25 alumnos en cada uno de los otros 5 semestres.

### **4. Definición de Variables**

#### 4.1. Prevalencia *Brucella*:

- Prevalencia negativa o individuo sano: encuesta con todas las preguntas negativas y ELISA menor a 9. Además se considerarán los alumnos con antecedentes de exposición pero que no cumplan los criterios de enfermedad.

- Prevalencia positiva: Se aceptará como *Brucella* positiva a todo resultado ELISA IgG mayor o igual a 9, independiente de la clínica. Se dividirán en grupos según enfermedad activa, crónica y tratada:
  - Enfermedad activa: Respuesta positiva a pregunta #11 menor 6 meses, sin diagnóstico y ELISA mayor 11.
  - Enfermedad crónica: Respuesta positiva a pregunta #11 mayor 6 meses, sin diagnóstico y ELISA mayor o igual a 9.
  - Enfermedad tratada: Respuesta #2 positiva y ELISA mayor o igual a 9.
- Antecedente Exposición: Respuesta positiva a preguntas #4, negativo a #7a, #8 y #9a con ELISA mayor o igual a 9.

#### 4.2. Avidéz

- Baja avidéz: >70% de disociación
- Avidéz moderada: 70 – 50% de disociación
- Avidéz Elevada: < 50% de disociación

#### 4.3. Grupos sanguíneos

Serán buscado según las técnicas clásicas y se diferenciarán en: Grupo A, grupo B, grupo AB, grupo O, y grupo Rh + y grupo Rh -.

#### 4.4. Región de procedencia

Las provincias se dividieron según la antigua disposición distinguiéndose una región de alta prevalencia: X región; mediana prevalencia: región metropolitana a XII región a excepción de la X, y de baja prevalencia: resto de las regiones.

#### 4.5. Enfermedad previa

Como ausencia o presencia previa de brucelosis

#### 4.6. Antecedente familiar

Definida como brucelosis en familiares que viven en la misma casa con diagnóstico y tratamiento

#### 4.7. Etnia

Se deducirán por medio de los 4 primeros apellidos formando tres grupos: pueblos originarios, mestizos o de origen europeo. Relacionaremos estos tres grupos a su seroconversión, a su prevalencia inicial y asociaciones con hábitos o factores biológicos.

#### 4.8. Antecedente clínica sugerente de reactividad cruzada

Se preguntará dirigidamente por enfermedades conocidas que dan reactividad cruzada a brucelosis como antecedente de diarrea febril, *Yersinia* y Cólera.

#### 4.9. Tiempo

El tiempo se evaluará en meses.

#### 4.10. Conductas de riesgo actuales

Se preguntará por consumo de productos lácteos sin pasteurización, atención a bovinos sin medidas de prevención, viajes a zonas endémicas y sus hábitos alimentarios en esos viajes, participación en abortos y contacto con animales enfermos.

#### 4.11. Presencia clínica similar y diagnóstico alternativo para *Brucella*

Se preguntará por cuadros de fiebre ondulante y por los diagnósticos entregados.

#### 4.12. Enfermedad activa

Se preguntará por cuadro clínico sugerente y tiempo de evolución.

#### 4.13. Edad y sexo

Estas variables al ser características epidemiológicas básicas serán medidas por medio de un cuestionario (anexo II) de respuestas claras y precisas. Se asume que al ser estudiantes universitarios deberían entender la encuesta, por lo tanto aquellas preguntas cuyas respuestas eran “sí” o “no” y que fueron omitidas se considerarán como un “no”, ya que la relevancia de una respuesta positiva no sería olvidada.

### **5. Estadística**

Se usó el programa STATA® 8.0 (StataCorp LP, TX, USA).

La comparación de las tasas de prevalencia entre los seis semestres se hizo mediante la prueba de Chi cuadrado, no fue necesaria la utilización de la prueba exacta de Fisher ya que las frecuencias eran mayores a 20 por grupo.

Debido a que se espera una baja prevalencia de seroconversión y que el tamaño muestral es relativamente pequeño, el nivel de significancia ( ) para todos estos test será igual o menor al 10% para ser considerada significativa. Se ha tomado la decisión de una cola ya que el objetivo primario del estudio es determinar el incremento potencial del riesgo y no la eventual disminución.

El peso relativo de los distintos factores de riesgo para la seroconversión, será analizado mediante regresión lineal. Se analizarán distintos modelos de acuerdo a los hallazgos, con especial énfasis en el grupo sanguíneo y factor Rh.

## **6. Principios éticos**

En el año 2002 en Ginebra, se prepararon por el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS) en colaboración con la Organización Mundial de la Salud las “Pautas Éticas Internacionales para la Investigación Biomédica en Seres Humanos”, las cuales consideraban que: la salud del paciente debe ser la base del actuar médico y éste debe velar sólo por el interés del paciente, el interés de la investigación médica es para mejorar la práctica clínica habitual y, por último, considera que los riesgos de los procedimientos diagnósticos, terapéuticos y profilácticos son mayores en la investigación que en el actuar médico [51].

El diseño y la ejecución de este estudio contemplaron y respetaron las indicaciones incluidas en la guía antes mencionada. El análisis de los resultados se sistematizará según los cuatro principios básicos de la bioética clínica: autonomía, beneficencia, no maleficencia y justicia, implícitos en estas pautas éticas [54, 55].

## V. RESULTADOS

Se obtuvo un total de 95 encuestas y 93 sueros para el análisis de los semestres 1, 3, 5, 8 y 10, el semestre 6 no se pudo evaluar por falta de coordinación. Todas las encuestas estaban incompletas en más de una pregunta, las preguntas cuyas respuestas eran “sí” o “no” y que fueron omitidas se consideraron como “no”.

Sólo se eliminó a un alumno cuyo Elisa mostró un valor discordante y no tenía relación con el resto del trabajo. Las características observadas en su encuesta don las siguientes: hombre de 23 años cursando el décimo semestre, había nacido en el norte pero vivía en la décima región hace más de 10 años y conocía la brucelosis. Llevaba 5 años trabajando con bovinos, nunca había tenido contacto con animales enfermos, sólo había ayudado en la vacunación, siempre había utilizado medidas preventivas. No tenía el antecedente de consumo de productos lácteos sin pasteurizar, diarrea ni fiebre. Sólo había viajado a Argentina, donde no se había expuesto a factores de riesgo. Él presentaba un valor de ELISA de 7,3, y aunque este resultado es negativo según la información del fabricante, estaba sobre el promedio de 1,24, por lo tanto no estaba asociado a ningún factor de riesgo conocido, ni podía pertenecer al grupo de los falsos positivos.

Las características generales de los alumnos se describen en la tabla 8. El 70% de los alumnos que participaron de este trabajo estaban cursando semestres no prácticos, presentaban una edad promedio de 21,5 años (+/- 2,12 años) y el 64% eran mujeres. El 81,8% vivían en zonas urbanas, principalmente en la décima región (82%), que era donde habían vivido los últimos 10 años.

El 90% de los estudiantes decía conocer la *Brucella*, el 10% restante pertenecían a los semestre 1 (6,6%) y 3 (3,3%), ambos no prácticos. No había antecedentes de enfermedad, sólo un alumno había tenido un familiar con brucelosis que

aparentemente se había contagiado en un laboratorio. Con respecto al tiempo de contacto con los bovinos, el 40,3% llevaba un año o menos, seguido por el 17,9% que llevaba más de 20 años, el 41,8% llevaba entre uno y 20 años. La mitad de los alumnos habían atendido partos, el 19,3% lo había hecho por un año, el 16,1% por 3 años; el 22,8% había atendido abortos, la mayoría (50%) durante los dos últimos años; el 74,6% había vacunado, pero sólo por un año (34,8%), luego se distribuía en igual proporción (11,6%) para los que lo habían hecho por 3, 4 y 5 años (Figuras 2, 3, 4 y 5).

Un tercio de los alumnos contestó haber tenido contacto con animales enfermos (29%), pero la mayoría de ellos (63,6%) en una sola oportunidad, o dos (22,7%). Las principales formas de contacto fueron por abortos (45,5%), seguido por los accidentes de laboratorio (13,6%) (Figuras 6 y 7). A pesar de todo lo anterior, sólo el 33,3% respondió haber usado medidas preventivas, donde en los semestres 1 y 3 representaban el 7,8%, el 5 y 8 el 15,4% y el semestre 10 el 9,6%.

Los hábitos alimentarios no estaban exentos de riesgo, el 47,9% consumía leche sin pasteurizar, el 46,7% yogurt, el 76,2% queso fresco. Tres alumnos (6,12%) habían tenido diarrea febril no secundaria a cólera ni Yersinia y sólo un alumno (2,08%) refirió haber presentado fiebre en el último mes. Por último, la mayoría (72,1%) había viajado a zonas endémicas, donde casi la mitad (40%) habían consumidos productos sin pasteurizar (Gráfico 2).

En la descripción de las variables biológicas se observó que para el grupo sanguíneo, la frecuencia para el grupo O (IV) fue de un 55,1%, 34,8% para el grupo A, 8,9% para el grupo B y 1,12% para el grupo AB. Con respecto al Rh, el 94,4% presentaba reactividad, esto es similar a lo observado en la literatura y a la casuística de los últimos 10 años en el banco de sangre del Hospital Clínico de la Universidad de Chile (HCUCH) (tabla 6).

Para cumplir el objetivo número uno se calculó el valor de Chi cuadrado, el que no mostró diferencias en los resultados del ELISA entre los semestres estudiados observándose una probabilidad cercana al 50%. El promedio de los valores de ELISA para todos los semestres fue de 1,24 Unidades de Densidades Ópticas (+/- 0,54). El análisis estadístico tampoco mostró una tendencia en la regresión lineal.

Al analizar los datos conocidos o supuestos de tener una probabilidad de mayor contagio (semestre, región de procedencia, región donde ha vivido los últimos 10 años, existencia de familiares con brucelosis, contacto con animales infectados, grupo sanguíneo y Rh, atención de partos, atención de abortos, vacunaciones, uso de medidas preventivas, ingesta de leche no pasteurizada, yogurt, queso fresco y viajes a zonas endémicas), se observó una leve tendencia (coeficiente 0,14) aunque significativa ( $p$ : 0,095) a aumentar el ELISA durante la carrera. También, se destaca una relación positiva del ELISA con la presencia de diarrea febril, con un coeficiente de 1,18 ( $p$ : 0,01) (Tabla 9),

## VII. DISCUSION

En nuestro estudio

no encontramos ningún resultado positivo ni tampoco relación con alguna conducta o variable biológica. Si bien la implementación del modelo adolece de ciertas limitaciones -especialmente en la muestra y en el seguimiento de los pacientes-, los datos obtenidos resultan consistentes con el supuesto de que la infección por *Brucella* ocurre en la práctica posterior. A continuación analizaremos con más detalles los diferentes aspectos técnicos y éticos, y discutiremos las diferencias en los resultados.

La ausencia de asociación positiva entre *Brucella* y las variables consideradas en nuestro estudio puede deberse, en primer lugar, al tamaño insuficiente de la muestra. Si bien, el poder ( ) recalculado al tener un “n” pequeño de 93 sujetos, se mantiene dentro de rangos aceptables con un valor del 84%, éste valor disminuye dramáticamente a 62% si consideramos un máximo de alumnos por semestre de 33. En nuestro estudio el error tipo II sería aún menor. Este punto es relevante, pues implica una limitación en la capacidad del estudio para determinar si la falta de seroconversión es debida a la real inexistencia de la enfermedad o es secundaria a falsos negativos por falencias metodológicas. Una de las maneras para solucionar esto sería aumentando el número de alumnos evaluados en cada semestre. Otra posible explicación a esta falta de resultados positivos es que la mayoría de los alumnos que participaron eran de los semestres no prácticos y sus tasas de infección son similares a las de la población general. En efecto, debe tenerse presente que en estos alumnos no están presentes los factores de riesgo conocidos para la brucelosis, ya que se observa un escaso número y tiempo de contacto con los animales enfermos (la mayoría ha tenido 1 ó 2 veces contacto) y ninguno ha tenido algún familiar con la enfermedad (patrón alimenticio). Sin embargo, no debe

descartarse del todo la posibilidad de que realmente exista una muy baja probabilidad de infectarse durante la carrera.

Dentro de los resultados que observamos, queremos destacar la tendencia positiva en la correlación al analizar la diarrea febril y los semestres de la carrera. La asociación con diarrea febril podría deberse a que uno de los 3 alumnos que presentaban esta variable, presentó un valor de ELISA de 3,48. Este valor es discordante con el promedio de 1,24, y a pesar de que podría ser un caso de brucelosis en una etapa inicial (que podría descartarse con un ELISA IgM específica para *Brucella*), también podría deberse a una infección por uno de los patógenos que poseen reactividad cruzada para la *Brucella*. En suma, resulta difícil inferir una tendencia global ya que se trata de un caso aislado y su valor no alcanza el rango de positividad.

En relación al aumento de los valores del ELISA observados durante la carrera, no es clínicamente válido, ya que el coeficiente en la regresión da un valor de 0.14, valor que aunque es estadísticamente significativo no presenta relevancia clínica y está lejos de lograr la positividad en los semestres. Esta tendencia puede deberse a un aumento de anticuerpos inespecíficos, o a diferencias en el procesamiento de las muestras. Por lo tanto, ambas asociaciones no parecen ser clínicamente relevantes, sino más bien el resultado de desviaciones estadísticas y/o artefactos de medición.

Otro ítem que llama la atención en el análisis de los resultados es la desinformación de los alumnos de medicina veterinaria respecto de esta patología, hecho manifiesto si se tiene en cuenta que el 10% de los encuestados desconoce la enfermedad en cuestión. Más destacable aún –y también más preocupante- resulta el escaso uso de medidas preventivas, que sólo se observa en un 33% del total de los alumnos encuestados; si bien existe una baja probabilidad de contagio, la alta prevalencia de brucelosis en veterinarios reportada por estudios anteriores (entre el

10 y el 70%), debería servir de incentivo para profundizar en el conocimiento de esta enfermedad y de las formas de prevención de contagio [11].

Resulta llamativa la falta de higiene alimentaria de los alumnos, que en general no parecen tener reparos en consumir productos lácteos no pasteurizados; teniendo en cuenta este antecedente, sería esperable una mayor seroprevalencia de *Brucella* en los sujetos de estudio, la que sin embargo no se encontró. Esto podría deberse a la escasa probabilidad de contagio que se observa en nuestro país (gráfico 2), secundaria a la baja prevalencia de la enfermedad, y/o a una mala comprensión del término “pasteurizada” que se utilizó en la encuesta. Esta segunda explicación parece tener cierto fundamento, pues un porcentaje importante de los estudiantes reportaron consumir yogurt y queso no pasteurizado, algo que no parece corresponder con la realidad.

Con respecto a la encuesta, faltó una validación con una prueba piloto a un total de 30 a 50 alumnos o personas con características semejantes al grupo de estudio, la que debiese contemplar, según las normas vigentes, el doble de las preguntas necesarias. Esto permitiría comprobar la fiabilidad, validez, comprensión, extensión, aceptabilidad, existencia de resistencias psicológicas o rechazo hacia preguntas (deseabilidad social), si hay ordenamiento interno lógico y si la duración es aceptable. Siguiendo estas pautas se habría podido elegir cuáles preguntas son las más adecuadas según el enunciado, pesquisar las preguntas que no cumplen los requisitos para mejorar la comprensión, la redacción, o agregar una definición [51]. Con respecto a defectos más específicos, como el relacionado con el conocimiento de los cuatro apellidos, una posible mejora hubiese consistido en cambiar esa pregunta por una que interrogase a los estudiantes acerca del nombre completo de la madre y del padre y del encuestado, o bien preguntar directamente por la etnia. También pudieron existir fallas en la explicación de qué son los productos

pasteurizados, en la clarificación de cuáles son las medidas de prevención para *Brucella*, y en explicitación de cuáles son las medidas utilizadas en el tratamiento, como los nombres, combinación y duración de los antibióticos.

Al analizar la formulación de las preguntas, se cumplieron la mayoría de los principios básicos en su realización, tales como la utilización de preguntas breves y fáciles de comprender, evitar la redacción de preguntas en forma negativa y la utilización del “por qué”. [51]. Admitimos, no obstante, que nos vimos en la obligación de introducir algunas preguntas que exigían algún esfuerzo de memoria, en particular, la referida a conductas en viajes a zonas endémicas.

En relación a los sesgos, destaco el de “deseabilidad social” que pudieran estar reflejadas en un mayor uso de medidas de prevención o menor ingestión de productos lácteos sin pasteurizar, también el sesgo de “aprendizaje” donde todas las preguntas se contestan de forma similar. Los sesgos de tendencia central o de error lógico no son aplicables a esta encuesta al no tener las respuestas categorizadas [51].

En relación a los principios éticos que se abordaron en este trabajo, podemos decir que en sus lineamientos generales se cumplieron satisfactoriamente [55]. Así, el *principio de autonomía* se reflejó en la firma del consentimiento informado, el que se hizo según las normas de la OMS. Debemos hacer notar, no obstante, una posible limitación en este punto. La alta frecuencia de consumo de alimentos no pasteurizados y el escaso uso de medidas preventivas en los procedimientos relacionados con el riesgo, observados en el grupo encuestado, hace pensar en una comprensión escasa de la información proporcionada, y cabe preguntarse si acaso no habrá tenido lugar el mismo fenómeno en relación al consentimiento informado. El *principio de beneficencia* fue respetado, ya que los datos obtenidos por la encuesta han dado información valiosa sobre la relación de los alumnos con la enfermedad, de

esta manera fue posible encontrar falencias en su formación, que podría exponerlos a conductas de riesgo durante su práctica profesional. Estos déficits fueron informados a la Universidad para que se tomen las medidas pertinentes y así disminuir la frecuencia de esta enfermedad en su práctica futura como veterinarios. Los *principios de no maleficencia* y de *justicia* están implícitos en la investigación, ya que no hay procedimientos que puedan causar daño a los estudiantes y además, al ser la brucelosis una enfermedad de notificación obligatoria y cuyo manejo está administrado por ley, no habría diferencias en el trato ni en la información oportuna y pertinente entregada a los alumnos.

Como ya se indicó, no nos fue posible evaluar la etnicidad de los estudiantes, lo que corresponde al quinto objetivo de esta investigación, ya que la mayoría de los alumnos sólo reportaron sus dos primeros apellidos. Esto puede ser por desconocimiento de los apellidos por parte de los alumnos o por simple omisión, lo que limitó seriamente la información necesaria para completar este aspecto de nuestro estudio. El objetivo número 7 tampoco se llevó a cabo, pues en ausencia de resultados positivos (títulos de anticuerpos mayores a 9), era inviable la ejecución de este punto.

De realizarse nuevamente esta investigación y con los conocimientos sobre los errores cometidos, propondría efectuarlo en un mayor espacio de tiempo para completar el seguimiento de la cohorte y no tener que realizar modificaciones. Así, durante el primer año se podrían realizar varias visitas, primero con el objetivo de validar la encuesta y segundo, para informar a los alumnos acerca de la *Brucella*, sus formas de contagio y prevención, además de la importancia del estudio. Luego se podrían espaciar las visitas a un seguimiento anual, lo que permitiría evaluar a los estudiantes que están cursando sus semestres expuestos y coordinar con tiempo los días de toma de muestra.

### Fortalezas y debilidades del diseño

Una de las **fortalezas** de este estudio estuvo dada por su viabilidad, pues se contaba con financiamiento externo y con el apoyo de la Universidad Austral. Además la existencia en Chile de un centro formador de médicos veterinarios -profesión que presenta mayor riesgo-, con una malla curricular teórico-práctica, en una zona de alta prevalencia nos entrega un control de la exposición y una población cautiva. Con esto mejora la probabilidad de encontrar seroconversión durante la carrera. Finalmente, las técnicas de laboratorio están estandarizadas, lo que nos permite tener un resultado confiable.

La **debilidad** principal del estudio estuvo dada por las modificaciones que se tuvieron que realizar en la cohorte para que su ejecución pudiera ocurrir en el plazo de un año. Debido a esto, los alumnos no se siguieron individualmente hasta la finalización de su carrera, y se tuvo que realizar una homogenización de ciertos factores conocidos de contagio. Otras debilidades fueron: que la población se presumió sana, la selección fue voluntaria (sesgo de selección por intereses), la enfermedad es de baja incidencia, la prevalencia de la enfermedad en bovino estaba en disminución, la presentación clínica es inespecífica y es de difícil diagnóstico. Por último, la obtención de la información se realizó por medio de una encuesta retrospectiva y es posible que los estudiantes hayan olvidado ciertas características.

### Dificultades del diseño

Este trabajo, debido a las restricciones temporales y económicas, sufrió modificaciones en las bases existentes de los estudios de cohorte. Algunas de éstas fueron, por ejemplo, el testeo en la población para descartar la presencia de enfermedad previa y el tiempo de seguimiento. Para poder superar estas limitaciones, se realizó una homogenización de las variables independientes de “estudiar veterinaria”, que son conocidas como factores de riesgo y que podrían afectar el curso individual del sujeto. No se realizó lo mismo en cuanto a sexo y edad ya que no se relaciona con la probabilidad de contagio. También hubo dificultades en el diseño de la encuesta, pues las preguntas no eran del todo claras, y en algunos casos no se logró el objetivo de ella. Con respecto al análisis de los datos, no se pudo eliminar las encuestas incompletas, ya que me hubiera quedado sin datos que evaluar.

### Dificultades en la ejecución

Debido a los cambios de horario y lugar de las actividades teóricas que normalmente tienen lugar con los estudiantes universitarios, muchas veces fue difícil que el investigador coincidiera con ellos. Esto fue aún más notorio en los cursos prácticos,

que generalmente no se realizaban en la universidad sino que en terreno. Algo similar ocurrió con los técnicos paramédicos que ayudaron con la toma de muestras.

Además se observó que los alumnos durante el primer semestre del año se mostraron más comprometidos y con más ganas de participar, posiblemente debido a la menor exigencia académica a la que estaban sometidos en esos períodos. Esto no fue así durante el segundo semestre, donde la mayoría de los alumnos se iban rápidamente a sacar fotocopias y estudiar.

Las encuestas, por otra parte, y a pesar de las varias revisiones a que fueron sometidas, presentaron errores, por ejemplo estaba poco claro el concepto “pasteurizar” o si el yogur derivaba de leche fresca. Asimismo, se constató en varias oportunidades que la encuesta no fue comprendida en su totalidad, para corregir eso se necesitaría más personal entrenado para poder revisar la encuesta y evaluar si estaba completa y lógicamente respondida, antes de su devolución.

#### Dificultades de carácter técnico

El resto de las técnicas (toma de grupo sanguíneo, centrifugación y guardado a 4°C) fueron realizados sin problemas, en algunas muestras se observó hemólisis que afortunadamente no interfirió con la lectura del ELISA. La técnica de ELISA la realizó un tecnólogo médico entrenado para ese efecto en el Laboratorio de Microbiología del Centro Médico San Joaquín de la Pontificia Universidad Católica de Chile.

## **VIII. CONCLUSIONES**

1. En resumen, no se puede descartar la existencia de seroconversión o el desarrollo de una infección durante la carrera, debido a las deficiencias metodológicas y de ejecución en el trabajo.
2. Al no ser una cohorte estándar no tengo el seguimiento real de los sujetos, de hecho la principal población estudiada son los alumnos que no estaban cursando semestres prácticos y recién estaban empezando la carrera. Ellos tendrían una probabilidad de exposición similar a la población general de la región.
3. Por la falta de seroconversión es difícil observar asociación de esta enfermedad con los factores biológicos estudiados o con el aumento de los valores del ELISA, lo que además imposibilitó la realización de todos los objetivos específicos inicialmente considerados.
4. Se logró describir bien la población que fue estudiada, y pesquisar en ella las conductas de riesgo que podrían ser las responsables de la alta tasa de esta enfermedad en este grupo laboral, como son el desconocimiento de la enfermedad en los primeros años y la falta de uso de las medidas preventivas. La determinación de los factores de exposición asociados con la seroconversión fueron obtenidos de los datos epidemiológicos basados en una encuesta. Esta encuesta no fue validada ni tampoco estaba completa, probablemente debido a una falta de comprensión de las preguntas, falla en la formulación de las respuestas o por la ignorancia de los sujetos en relación a la brucelosis.
5. Destaca el hecho de que existe un escaso conocimiento y uso de las medidas de prevención para evitar el contagio de la enfermedad, y considerando que estos

hábitos logran adquirirse en forma permanente cuando son enseñados en etapas tempranas, parece sumamente relevante insistir en este punto, especialmente en este grupo donde la prevalencia de *Brucella* puede llegar al 10%. A mi juicio, y más allá de las limitaciones de esta investigación, la detección de esta falencia en la formación profesional de la población estudiada constituye uno de los hallazgos más interesantes de este estudio. En relación a este tema, cabe preguntarse si se trata de una deficiencia circunscrita a los alumnos de la Universidad Austral y referida específicamente a esta patología, o si por el contrario, ella existe también en estudiantes de otros centros y se extiende a otras formas de zoonosis.

Por lo tanto, se hace patente la necesidad de llevar a cabo otro trabajo en el que se contemple el seguimiento a los alumnos durante los cinco años de la carrera, incluyendo los diferentes internados rurales y con una encuesta validada y comprensible. Ello no sólo para evaluar el impacto del internado rural en la brucelosis, sino también en otras probables enfermedades relacionadas con el trabajo agropecuario y del uso de las medidas preventivas.

## **BIBLIOGRAFIA**

- 1.- Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, Christou L, Tsianos EV. The new global map of human brucellosis. *Lancet Infect Dis* 2006; 6: 91-99.
- 2.- 1<sup>st</sup> International Conference on Emerging Zoonoses Jerusalem, Israel. Brucellosis: an Overview. *Emerg Infect Dis* 1997; 3(2): 213-221.
- 3.- Mantur BG, Amarnath SK, Shinde RS. Review of clinical and laboratory features of human brucellosis. *Indian J Med Microbiol* 2007; 25(3): 188-202.
- 4.- Mantur BG, Biradar MS, Bidri RC, Mulimani MS, Veerappa, Kariholu P, Patil SB, Mangalgi SS. Protean clinical manifestations and diagnostic challenges of human brucellosis in adults: 16 years experience in an endemic area. *J Med Microbiol* 2006; 55: 897-903.
- 5.- Franco MP, Mulder M, Gilman RH, Smits HL. Human brucellosis. *Lancet Infect Dis* 2007; 7: 775-86.
- 6.- Young EJ. Brucella Species. Mandell : Principles and Practice of Infectious Diseases Sixth edition. Part III: Infectious Diseases and their etiologic agents. Chapter 223:2669-73.
- 7.- Rodríguez AT, Orduña AD, Ariza XC, Moriyón IU, Díaz RG, Blasco JM, Almaraz AG, Martínez FN, Ruiz CC, Abad RF. Manual de Brucelosis. Edita Junta de Castilla y León. Consejería de Sanidad y Bienestar Social. Dirección General de Salud Pública, 2001.
- 8.- Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E. Brucellosis. *N Engl J Med* 2005; 352: 2325-36.
- 9.- Dale EE. Microbiology and epidemiology of Brucella. Up To Date vol. 13 No 1. 2005.
- 10.- Castro HA, González SR, Prat MI. Brucellosis: una revisión práctica. *Acta Bioquím Clin Latinoam* 2005; 39 (2): 203-16.
- 11.- Wall VZ, Zamorano CV, Paredes LN, Coyán MC, Gómez JZ. Prevalencia de brucellosis humana en predios agrícolas ganaderos. Comuna de Puyehue de Osorno X Región, Chile 1999. *Rev Chil Salud Pública* 2000; 4(2-3): 112-6.

- 12.- Sauret JM, Vilissova N. Human brucellosis. *JABFP* 2002; 15(5): 401-6.
- 13.- Abo-Shehada MN, Odeh JS, Abu-Essud M, Abuharfeil N. Seroprevalence of brucellosis among high risk people in northern Jordan. *Inter J Epidemiol* 1996; 25(2): 450-4.
- 14.- Al Dahouk S, et al. Human brucellosis in a nonendemic country: a report from Germany, 2002 and 2003. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; 24: 450-456.
- 15.- Boschirolu ML, Foulongne V, O'Callaghan D. Brucellosis: a worldwide zoonosis. *Curr Opin Microbiol* 2001; 4: 58-64.
- 16.- Sbriglio JL, Sbriglio H, Sainz S. Brucellosis: Una patología generalmente subdiagnosticada y que impacta negativamente en la producción pecuaria y desarrollo de nuestros países. *Rev Bioanalisis* 2007: 18-22.
- 17.- Agasthya AS, Isloor S, Prabhudas K. Brucellosis in high risk group individuals. *Indian J Med Microbiol* 2007; 25(1): 28-31.
- 18.- Karimi A, Alborzi A, Rasooli M, Kadivar MR, Nateghian AR. Prevalence of antibodies to Brucella species in butchers, slaughterers and others. *East Mediterr Health J* 2003; 9(1-2):178-84
- 19.- Omer Mk, Assefaw T, Skjerve E, Tekleghiorghis T, Woldehiwet Z. Prevalence of antibodies to Brucella spp. And risk factors related to high-risk occupational groups in Eritrea. *Epidemiol Infect* 2002; 129: 85-91.
- 20.- Moreno E. Brucellosis in Central America. *Veterinary microbiology* 2002; 90 (1): 31-38.
- 21.- Lee K, Lim HS, Park WW, Kim SH, Lee DY, Park MY, Hur Y. Seroprevalence of brucellosis among risk population in Gyeongsangbuk-do, 2006. *Prev Med Pub Health* 2007; 40(4): 285-90. (abstract)
- 22.- Kose S, Smits HL, Abdoel TH, Ozbel Y. Prevalence of Brucella antibodies in rural and suburban communities in three provinces of Turkey: Need for improved diagnosis and prevention. *J Infect* 2006; 53: 308-314.
- 23.- Araj GF, Azzam RA. Seroprevalence of Brucella antibodies among persons in high-risk occupation in Lebanon. *Epidemiol Infect* 1996; 117(2): 281-8.

- 24.- Lopetegui P. Estrategias y avance del control de la brucelosis bovina en Chile. SAG, 2002. Comunicación personal.
- 25.- Serra J, Gozzi M. Discrepancias entre las pruebas de Coombs a Brucella y brucellacapt. Carta al Editor. *Enferm Infect Microbiol Clin* 2002; 20(8): 413-4.
- 26.- Araj GF, Lulu AR, Mustafa MY, Khateeb MI. Evaluation of ELISA in the diagnosis of acute and chronic brucellosis in human beings. *J of Hyg* 1986; 97(3): 457-469.
- 27.- Dale EE. Brucellosis. Up to Date Vol 13 No 1.
- 28.- Orduña A. Evaluation of an Immunocapture-Agglutination Test (Brucellacapt) for serodiagnosis of human brucellosis. *J Clin Microbiol* 2000; 38(11): 4000-5.
- 29.- Ardic N, Ozyurt M, Sezer O, Erdemoglu A, Haznedaroglu T. Comparison of Coombs and immunocapture-agglutination test in the diagnosis of brucellosis. *CMJ* 2005; 118(3): 252-254.
- 30.- Yagupsky P. Minireview: Detection of Brucellae in blood culture. *J Clin Microbiol* 1999; 37(11): 3437-42.
- 31.- Ciftci C, Oztürk F, Oztekin A, Karaoglan H, Saba R, Gültekin M, Mamikoglu L. Comparison of the serological test used for the laboratory diagnosis of brucellosis. *Mikrobiyol Bul* 2005; 39(3): 291-9. (abstract).
- 32.- Memish ZA, Almuneef M, Mah MW, Qassem LA, Osoba AO. Comparison of the Brucella standar agglutination test with the ELISA IgG and IgM in patients with Brucella bacteremia. *Diag Microbiol Infect Dis* 2002; 44:129-132.
- 33.- Almuneef M, Memish ZA. Persistence of Brucella antibodies after successful treatment of acute brucellosis in an area of endemicity. Letters to the editor. *J Clin Microbiol* 2002; 40(6): 2313.
- 34.- Serra J, Viñas M. Laboratory diagnosis of brucellosis in a rural endemic area in northeastern Spain. *Inter Microbiol* 2004; 7: 53-58.
- 35.- El-Rab MG, Kambal AM. Evaluation of a Brucella enzyme immunoassay test (ELISA) in comparison with bacteriological culture and agglutination. *J Infect* 1998; 36: 197-201.

- 36.- Serra J, Velasco J, Godoy P, Mendoza J. ¿Puede sustituir la prueba de brucellacapt a la prueba de coombs en el diagnóstico de la brucelosis humana?. *Enferm Infec Microbiol Clin* 2001; 19: 202-5.
- 37.- Gazapo E, González Lahoz J, Subiza JL, Baquero M, Gil J, de la Concha EG. Changes in IgM and IgG antibody concentrations in brucelosis over time: importance for diagnosis and follow up. *J Infect Dis* 1989; 159(2): 219-225.
- 38.- Irmak H, Buzgan T, Evirgen O, Akdeniz H, Demiroz AP, Abdoel TH, Smits HL. Use of the Brucella IgM and IgG flow assay in the serodiagnosis of human brucelosis in an area endemic for brucelosis. *Am J Trop Med Hyg* 2004; 70(6): 688-694.
- 39.- Araj GF, Kaufmann AF. Determination by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay of Immunoglobulin G (IgG), IgM, and IgA to Brucella melitensis major outer membrane proteins and whole-cell heat-killed antigens in sera of patients with brucelosis. *J Clin Microbiol* 1989; 27(8): 1909-12.
- 40.- Mert A, Ozaras R, Tabak F, Bilir M, Yimaz M, Kurt C, Ongoren S, Tanriverdi M, Ozturk R. The sensitivity and specificity of Brucella agglutination test. *Diag Microbiol Infect Dis* 2003; 46: 241-243.
- 41.- Sippel JE, El-Masry NA, Farid Z. Diagnosis of human brucelosis with ELISA. *Lancet* 1982: 19-21.
- 42.- Moulds JM, Moulds JJ. Blood group associations with parasites, bacteria, and viruses. *Transfus Med Review* 2000; 14(4): 302-11.
- 43.- Valenzuela CY, Herrera P. ABO, Rh, MNSs, Sex and Typhoid Fever. *Hum Hered* 1993; 43: 301-10.
- 44.- Herrera P, Valenzuela CY, Arias H, Olivari F, Terán C, Ubilla C, Bravo P, Farías P, Oviedo I. Fiebre tifoidea en el niño: asociaciones de los fenotipos sanguíneos ABO, Rh y MNSs. *Rev Med Chile* 1992; 120: 986-993.
- 45.- Aranís JC, Oporto CJ, Espinoza M, Riedel KI, Pérez CC, García CP. Utilidad de la determinación IgG e IgM por ELISA e inmunocaptura en una serie clínica de brucelosis humana. *Rev Clin Infect* 2008; 25(2): 116-121-

- 46.- Manual VIRCELL, S.L. Para diagnóstico in vitro de Brucella ELISA IgG. <http://www.vircell.com>.
- 47.- Gutiérrez JF, Rodríguez MV, Maroto MV. Relación entre el tiempo de evolución de la brucelosis humana y la avididad de anticuerpos IgG específicos. *Rev Med Chile* 1995; 123:819-22.
- 48.- Pellier T, Ariza J, Foz A, Pallares R, Gudiol F. Specific antibodies detected during relapse of human brucellosis. *J Infect Dis* 1988; 157(5):918-24.
- 49.- Yasodhara P, Ramlakshmi BA, Sarma MK. A new approach to differentiate recent vs chronic toxoplasma infection: Avidity elisa in toxoplasma serology. *Ind J Med Microbiol* 2001; 19(3): 145-8
- 50.- Moulds JM, Nowicki S, Moulds JJ, Nowicki BJ. Human blood groups: incidental receptors for viruses and bacteria. *Transfusion* 1996; 36:362-374.
- 51.- Hulley S. B., Cummings S. R., Browner W. S., Grady D., Hearst N. y Newman T. B. *Designing Clinical Research*. Second edition. California , San Francisco 2001. Ed. Lippincott Williams & Wilkins. Capítulo 15, pp 231 - 245.
- 52.- Centro interdisciplinario de estudios en bioética. Universidad de Chile. CIEB. [en línea]. Declaración de Helsinki. Fecha de revisión: 2002. [consultado el 4 de Enero 2011]. Disponible en [<http://www.bioetica.uchile.cl/doc/helsink.htm>
- 53.- Centro Interdisciplinario de estudios en bioética. Universidad de Chile. CIEB [en línea]. Pautas éticas internacionales. Fecha de revisión: 2000. [consultado el 4 de Enero 2011]. Disponible en: <http://www.bioetica.uchile.cl/pautas/pautas.htm>
- 54.- Organización Mundial de la Salud (OMS). Comité de Evaluación Ética de la Investigación (CEI).
- 55.- Council for International Organizations of Medical Sciences. World Health Organization [en línea]. Normas para la redacción del consentimiento informado, recomendadas por CIOMS. Fecha actualización: 2002. [consultado enero 2009]. Disponible en: [http://www.cioms.ch/publications/layout\\_guide2002.pdf](http://www.cioms.ch/publications/layout_guide2002.pdf)
- 56.- Asociación Argentina de Hemoterapia e inmunohematología. Manual Técnico, 15<sup>ava</sup> edición, Ciudad de Buenos Aires, Argentina 2007. Capítulo 13 pp 301-325.

57.- Asociación Argentina de Hemoterapia e inmunohematología. Manual Técnico, 15<sup>ava</sup> edición, Ciudad de Buenos Aires, Argentina 2007. Capítulo 14 pp 327-346.

58.- National Institute for Health and Clinical Excellence. NHS. [en línea]. Measuring the use of NICE guidance. Fecha actualización: 3 de Noviembre 2010 [Consultado el 6 de Enero 2011]. Disponible en:

[http://www.nice.org.uk/usingguidance/measuringtheuseofguidance/evaluation\\_and\\_review\\_of\\_nice\\_implementation\\_evidence\\_ernie.jsp](http://www.nice.org.uk/usingguidance/measuringtheuseofguidance/evaluation_and_review_of_nice_implementation_evidence_ernie.jsp)

## FIGURAS

Figura 1: Distribución de la incidencia mundial [1]

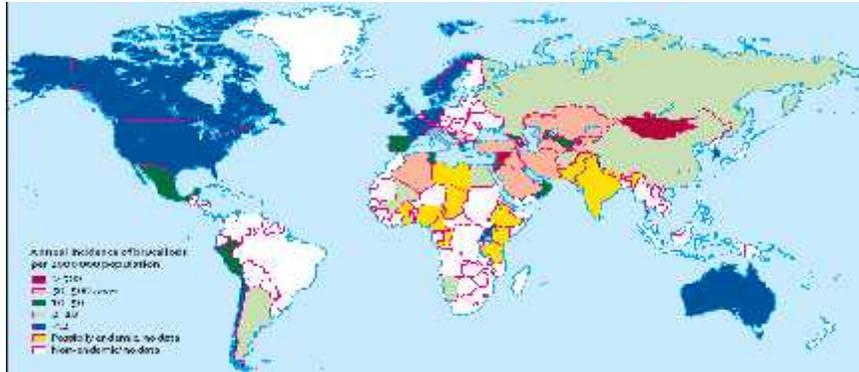


Figura 2: Tiempo de Contacto con Animales

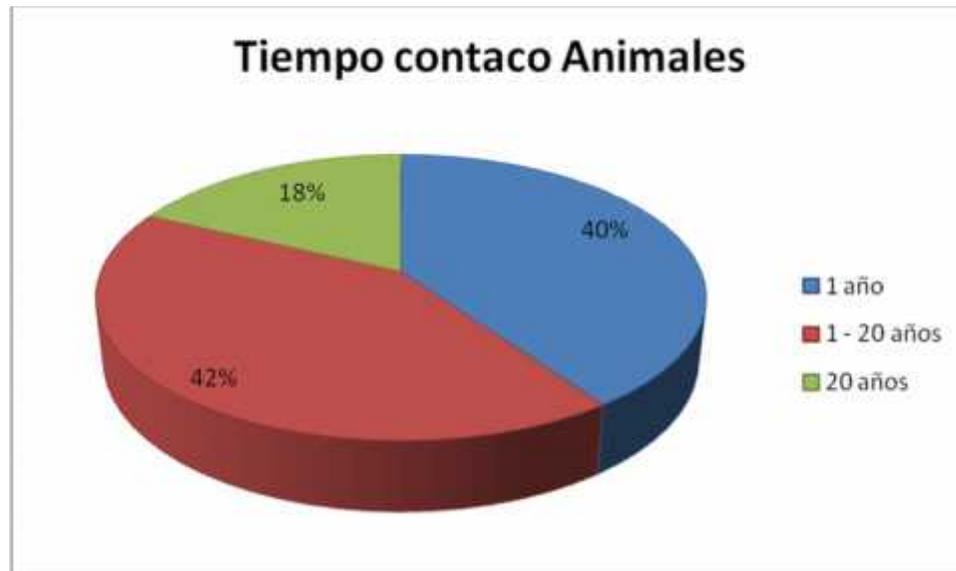


Figura 3: Atención Partos

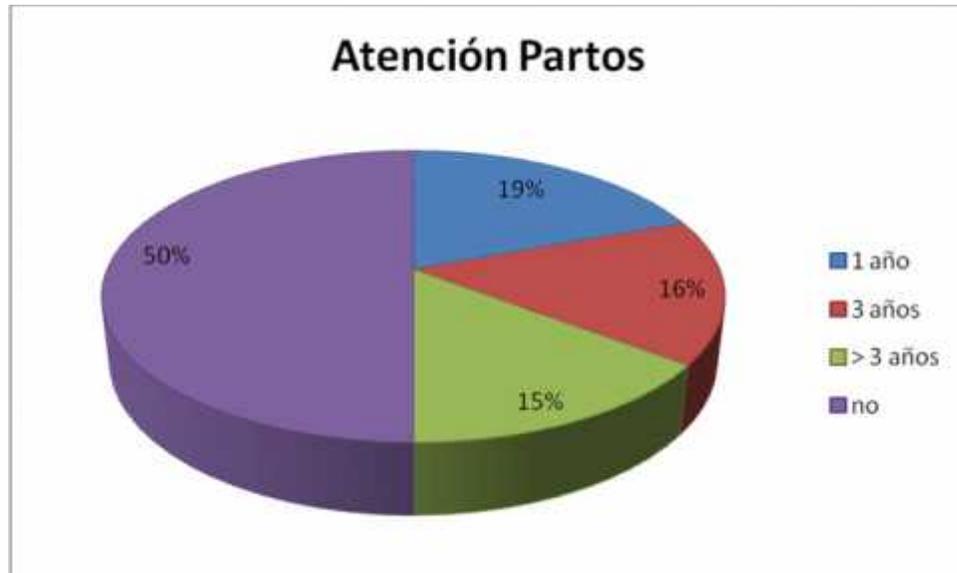


Figura 4: Atención Abortos

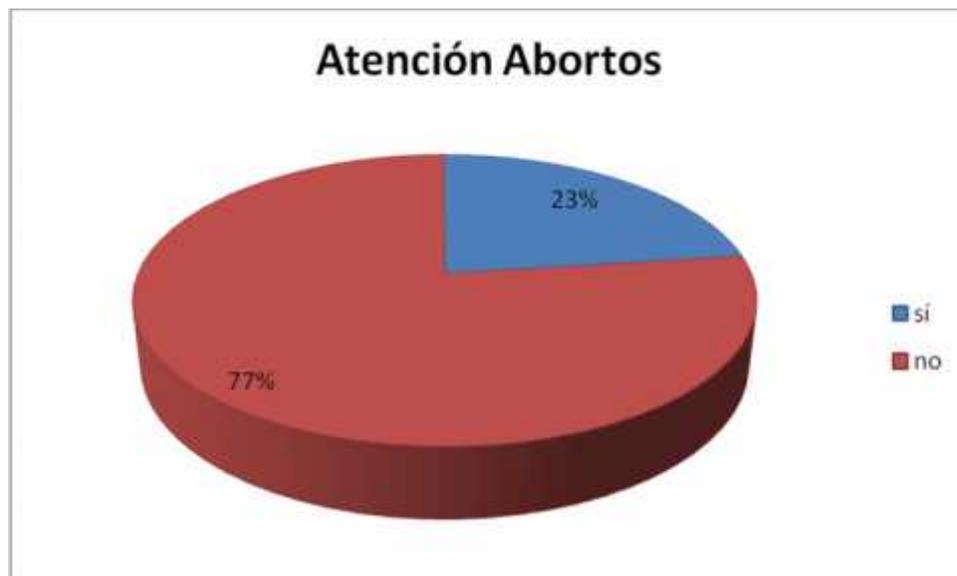


Figura 5: Ayuda en Vacunación



Figura 6: Frecuencia de Contacto con Animales Enfermos

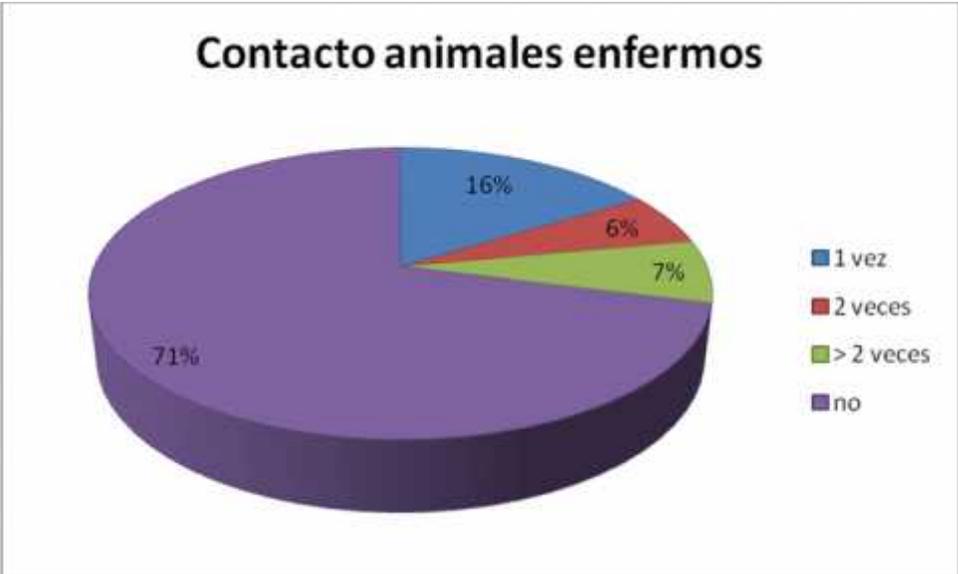


Figura 7: Tipo de Contacto con la *Brucella*





## TABLAS

Tabla 1: Especies y características de *Brucella* [3]

Espece	Biotipos	Hospedero	Descrito por
<i>B. Melitensis</i>	1 -3	Cabras, ovejas y camellos	Bruce 1887
<i>B. Abortus</i>	1 - 6,9	Vacas, camellos, Yaks y búfalos	Bang, 1897
<i>B. Suis</i>	1 - 5	Cerdos, caribou, liebres y roedores salvajes y renos	Traum, 1914
<i>B. Canis</i>	--	Perros	Carmichael and Bruner, 1968
<i>B. Ovis</i>	--	Ovejas	Van Drimmelen, 1953
<i>B. Neotomae</i>	--	Roedores	Stoenner and Lackman, 1957
<i>B. pimipediae</i> y <i>B. cetaeae</i>	--	Ballenas, delfines, focas y marsopas	Ewalt and Ross, 1994

Tabla 2: Lugar y vida media de *Brucella* [9]

Materia	Tiempo de supervivencia
Suelo y estiércol	80 días
Polvo	15 – 40 días
Leche a temperatura ambiente	2 – 4 días
Lanas de depósito	110 días
Fluidos y secreciones en verano	10 – 30 min
Agua a 37°C y pH 7,5	Menos de 1 día
Agua a 8°C y pH 6,5	Más de 57 días
Fetos mantenidos a la sombra	6 – 8 meses
Descarga vaginal mantenida en el hielo	7 meses
Manteca a 8°C	1 – 2 meses
Cuero manchado con excremento de vaca	21 días
Paja	29 días
Grasa de ordeño	9 días
Heces bovinas naturales	1 – 100 días
Tierra húmeda a temperatura ambiente	66 días
Tierra desecada a temperatura ambiente	4 días

Tabla 3: Mecanismos de transmisión de la *Brucella* [15].

Mecanismo	Vehículo	Puerta de entrada	Población a riesgo
Ingestión	Leche cruda	Orofaringe y mucosa digestiva	Población general
	Derivados lácteos		
Contacto	Productos animales contaminados	Piel erosionada, conjuntiva y mucosa nasal	Trabajadores en contacto con animales o sus productos (pastores, veterinarios)
			Laboratorios
Inhalación	Aerosoles en laboratorios (muestras biológicas contaminadas, vacunas vivas)	Mucosa nasal	Laboratorios
	Aerosoles en establos, lanas, etc		Trabajadores de la lana
			Limpieza de establos
Inoculación	Vacunas vivas	Piel sana (accidente biológico)	Laboratorios
	Muestras contaminadas		Veterinarios

Tabla 4: Características clínica de la brucelosis

	N° pac	Fiebre	Artralgia/artritis	Sudoración	Síntomas constitucionales	Hepatomegalia	Esplenomegalia
Memish et al (2000)*	160	146 (91.3%)	105 (65.5%)	30 (18.8%)	70 (43.8%)	9 (5.6%)	11 (6.9%)
Kokoglu et al (2006)*	138	108 (78.3%)	107 (77.5%)	100 (72.5%)	98 (71%)	37 (26.8%)	50 (36.2%)
Mantur et al (2006)*	495	417 (84.2%)	117 (23.6%)	19 (3.8%)	6 (1.2%)	56 (11.3%)	95 (19.2%)
Ruiz-Mesa et al (2005)*	711	702 (98.7%)	353 (49.6%)	597 (84%)	533 (75%)	259 (35.2%)	148 (20.8%)
Barroso Garcia et al (2002)*	565	441 (78.1%)	248 (43.9%)	483 (85.5%)	472 (83.5%)	422 (74.7%)	152 (26.9%)
Hasanjani Roushan et al (2004)*	469	314 (67%)	252 (53.7%)	357 (76.1%)	-	-	27 (5.8%)
Pappas et al (2005)*	100	91 (91%)	44 (44%)	-	26 (26%)	7 (7%)	16 (16%)
Troy et al (2005)*	28	25 (89%)	15 (54%)	-	13 (46%)	8 (29%)	5 (18%)
Adriopoulos et al (2007)*	144	144 (100%)	125 (86.8%)	138 (95.8%)	140 (97.2%)	-	74 (51.4%)
Giannakopoulos et al (2006)*	52	42 (81%)	43 (83%)	8 (15%)	7 (13%)	-	-
Mantur et al (2004)*	93	49 (53%)	19 (20%)	-	-	-	-
Tsolia et al (2002)*	39	27 (69%)	27 (69%)	8 (21%)	13 (33%)	11 (28%)	15 (38%)
Mantur et al (2007)**		(77.8%)	(21%)	(3.6%)	-	(10%)	(17.2%)
Pappas G et al***		(91%)	-	-	-	(17%)	(16%)
* LANCET 2007 [5] ** Indian J Med Microbiol 2007 [21] *** NEJM 2005 [7]							

Tabla 5: Porcentaje de seropositividad de las distintas pruebas en función de la etapa de la enfermedad [6]

	Rosa de Bengala	SAT	Elisa			
			IgG	IgA	IgM	IgG,A,M
Aguda	94.4	94.4	91.6	86.1	86.1	100
Crónica	93.3	86.6	93.3	73.3	73.3	100

Tabla 6: distribución grupos sanguíneos

	10 años HCUCH (%)	Manual Técnico [56,57]	Estudiantes Veterinaria
AB	2,18	4	1,12
A	29,46	40	34,8
B	9,68	11	8,9
O	58,17	45	55,06
Rh(+)	94,18	85	94,4

Tabla 7: Grados de evidencia utilizados adaptados desde el National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE) [58]

Nivel	Tipo de Evidencia	Grado	Evidencia
I	Evidencia obtenida desde un estudio randomizado controlado o meta-análisis de estudios randomizados controlados	A	Al menos un estudio controlado de buena calidad y consistencia referente a la recomendación específica (evidencia nivel I sin extrapolación)
Ila	Evidencia obtenida desde al menos un estudio controlado bien diseñado, sin randomización	B	Estudios clínicos con buen diseño metodológico, pero no randomizados (evidencia nivel II o III) o extrapolado desde evidencia nivel I
Ilb	Evidencia obtenida desde al menos un estudio cuasi experimental bien diseñado		
III	Evidencia obtenida desde estudios descriptivos no experimentales, bien diseñados, como por ejemplo estudios comparativos, de correlación y reportes de casos		
IV	Evidencia obtenida desde opiniones o reportes de expertos	C	Reportes u opiniones de expertos. Este grado indica que no existen estudios de buena calidad o sin disponibilidad en las bases de datos tradicionales
		GPP	Recomendación de buenas prácticas basadas en la experiencia clínica del grupo de desarrollo de la guía

Tabla 8: Descripción de los Alumnos

Semestre	Distribución	Edad Promedio	Sexo (%)		Elisa (DS)	Conoce <i>Brucella</i> (%)	Medidas Prevención (%)	Procedencia	
			F	M				Urbano	Rural
Primero	23.9	19.4	81	19	1.16 (0.60)	70	50	83.3	16.7
Tercero	18.5	20.3	47	53	1.28 (0.76)	82	67	-----	-----
Quinto	27.2	21.5	68	32	1.32 (0.54)	100	75	80	20
Octavo	8.7	23	62	38	1.10 (0.19)	100	33	33.7	66.7
Décimo	21.7	24	55	45	1.26 (0.54)	100	73	89.5	10.5

Tabla 9: Resultados Regresión Lineal

	Coeficiente	Desviación Estándar	Probabilidad
Semestre	0.14	0.08	0.09
Contacto Animales Enfermos	0.09	0.25	0.74
Rh	0.29	0.48	0.55
Grupo B	-0.38	0.65	0.57
Grupo O	-0.24	0.19	0.24
Abortos	0.56	0.40	0.20
Vacunación	-0.58	0.37	0.16
Diarrea Febril	1.18	0.36	0.01
Medidas Prevención	0.58	0.39	0.18
Viajes	-0.03	0.25	0.91

## GRÁFICOS

Gráfico 1: prevalencia de predios infectados en las diferentes regiones

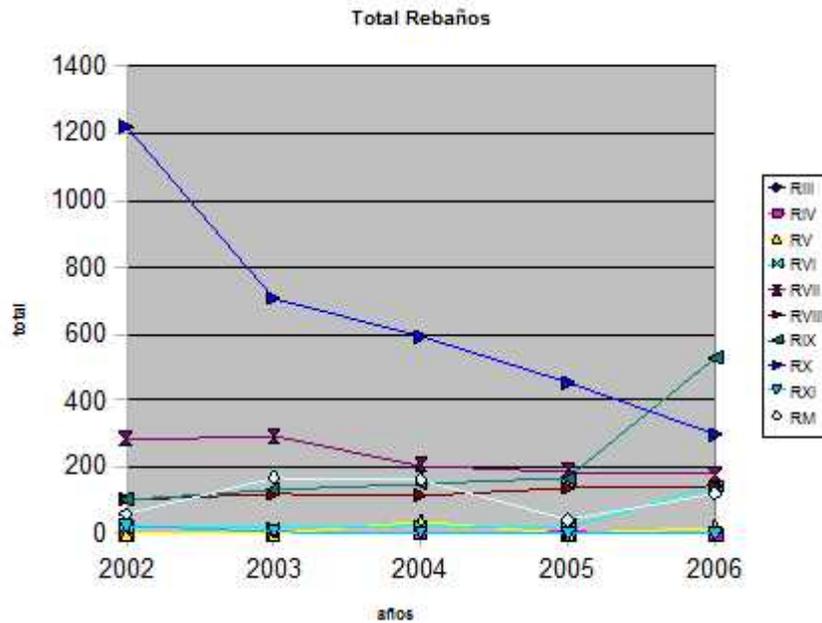
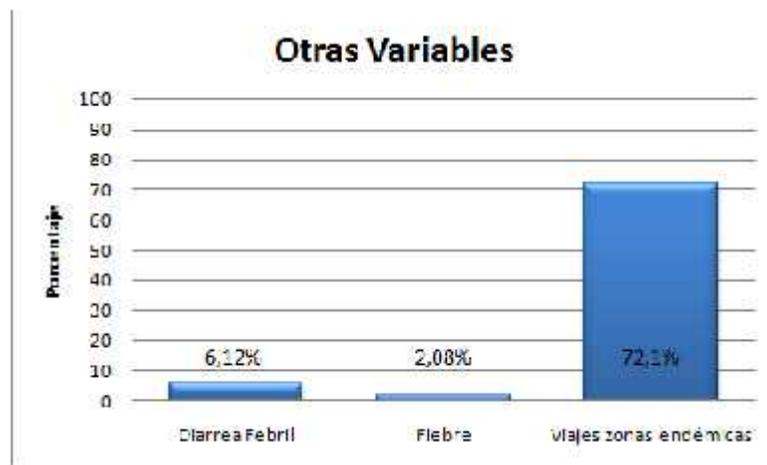


Gráfico 2: Otras Variables





## ANEXO I: CONSENTIMIENTO INFORMADO

UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE MEDICINA

Soy M. Loreto Burnier y estoy realizando mi tesis para terminar mi Magister en Ciencias Médicas, mención Epidemiología Clínica en la Universidad de Chile. Este consentimiento es para invitarlos a participar en mi proyecto de investigación “seroconversión a *Brucella* en estudiantes de veterinaria en una zona de alta prevalencia en Chile”.

Si es que hay palabras que no entienda o cualquier pregunta que quiera hacer con relación a mi participación deberá ser contestada por la investigadora responsable del estudio, la Dra. M. Loreto Burnier en forma personal, al teléfono: 09-5348754 o por mail: loretoburnier@gmail.com.

La Brucelosis es una enfermedad subdiagnóstica en todo el mundo que ha ido en disminución por la pasteurización de la leche y sus productos, por estas razones, actualmente se la considera una enfermedad profesional. El objetivo de este trabajo es ver si existe seroconversión a *Brucella* en los estudiantes de veterinaria en una universidad que se encuentre en una zona de alta prevalencia de la enfermedad por medio de ELISA IgG. Se ha seleccionado la universidad de Valdivia por pertenecer a unas de las regiones con más alta prevalencia *Brucella* en Chile. Por todo esto, estamos invitando a todos los estudiantes de veterinaria del primer, tercer, quinto, sexto, octavo y décimo semestre a participar.

Yo entiendo que:

- a) Al participar en este estudio, se me realizará una encuesta breve, con datos demográficos generales y pesquisa de posible antecedente o contacto con *Brucella*.
- b) Se me tomará una muestra de sangre venosa de 10 cc para cuantificar ELISA IgG, avidéz de los anticuerpos, grupo sanguíneo y Rh. El remanente de éstos sueros se preservarán congelados en la Universidad Católica por 1 año para efectuar cualquiera de los test en caso de que ocurrieran problemas técnicos.
- c) Los posibles riesgos de la punción incluyen: dolor, hematomas, sangrado, desmayo o sensación de mareo. Muy excepcionalmente: espasmo venoso, punción arterial, infección, lesión nerviosa, trombosis.
- d) Si yo tuviera la enfermedad, se notificaría al MINSAL (enfermedad de notificación obligatoria) y se derivará al centro especializado de la zona para realizar tratamiento según normas.
- e) El posible beneficio que tendré en este estudio es aportar con una iniciativa de investigación que busca disminuir la incidencia de Brucelosis en veterinarios.
- f) Yo podré retirarme de este estudio en cualquier momento sin dar razones y sin que esto me perjudique en mi salud o en la carrera que estoy cursando
- g) yo podré negarme a contestar parcial o totalmente la encuesta sin dar razones y sin que esto me perjudique en mi salud o en la carrera que estoy cursando
- h) Los resultados de este estudio pueden ser publicados, pero mi nombre o identidad no será revelado. Mis datos clínicos permanecerán en forma confidencial, a menos que mi identidad sea solicitada por ley.
- i) Mi consentimiento está dado voluntariamente sin que haya sido forzado u obligado.
- j) En el caso de que sea dañado físicamente como resultado del estudio, la atención y el tratamiento médico serán proporcionados bajo la responsabilidad médica y legal del investigador o médico responsable que firma este consentimiento.

- k) Tengo entendido que la participación en este estudio es para mejorar el conocimiento de la evolución de la *Brucella* en los estudiantes de veterinaria y no tendré recompensaciones económicas.

FIRMA DEL ALUMNO \_\_\_\_\_  
RUT DEL ALUMNO \_\_\_\_\_

FIRMA INVESTIGADOR O MEDICO RESPONSABLE \_\_\_\_\_  
RUT INVESTIGADOR O MEDICO RESPONSABLE \_\_\_\_\_

Investigador responsable: M. Loreto Burnier Allende

## ANEXO II: ENTREVISTA ALUMNOS

Número \_\_\_\_\_

Nombres: \_\_\_\_\_  
4 apellidos: \_\_\_\_\_  
Etnia: \_\_\_\_\_ Ocupación: \_\_\_\_\_  
Edad: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_ RUT: \_\_\_\_\_  
Provincia/Comuna nacimiento: \_\_\_\_\_ rural/urbano Tiempo: \_\_\_\_\_  
Provincia/Comuna donde vive: \_\_\_\_\_ rural/urbano Tiempo: \_\_\_\_\_

---

- 1 ¿Usted Conoce la Brucelosis? \_\_\_\_\_
- 2.- He tenido *Brucella*: \_\_\_\_\_
  - a) Si es Sí: hace cuanto tiempo \_\_\_\_\_
  - b) ¿Qué tratamiento? \_\_\_\_\_
  - c) ¿Cuántos antibióticos? \_\_\_\_\_
  - d) ¿Recaídas? \_\_\_\_\_
  - e) ¿Causa de contagio? \_\_\_\_\_
- 3.- Alguien en mi familia ha tenido o ha sido diagnosticada como *Brucella*: \_\_\_\_\_
  - a) Si es Sí: Hace cuanto tiempo \_\_\_\_\_
  - b) Modo de contagio? \_\_\_\_\_
- 4.- He tenido contacto con animales infectados con *Brucella*: \_\_\_\_\_
  - a) Hace cuanto tiempo? \_\_\_\_\_
  - b) Que tipo de contacto (abortos, partos, accidental, etc)? \_\_\_\_\_
- 5.- Antecedentes:
  - a) Diarrea Febril \_\_\_\_\_
  - b) Cólera \_\_\_\_\_
  - c) Yersinia \_\_\_\_\_
  - d) Fiebre ondulante/fiebre crónica \_\_\_\_\_
- 6.- Tiempo de contacto con bovinos (vacas, ganado) \_\_\_\_\_
- 7.- Participación/ayuda de
  - a) partos bovinos \_\_\_\_\_ años \_\_\_\_\_
  - b) abortos \_\_\_\_\_ años \_\_\_\_\_
  - c) vacunación \_\_\_\_\_ años \_\_\_\_\_
- 7a.- Uso de medidas de prevención *Brucella* \_\_\_\_\_
- 8.- Ingestión
  - a) leche sin pasteurizar \_\_\_\_\_ años \_\_\_\_\_
  - b) yogurt \_\_\_\_\_ años \_\_\_\_\_
  - c) queso fresco \_\_\_\_\_ años \_\_\_\_\_
  - d) otro \_\_\_\_\_
- 9.- Viajes a Perú/Brasil/Argentina en los últimos 10 años \_\_\_\_\_ donde? \_\_\_\_\_
  - 9a.- ¿Comió leche/yogurt/Quesillo/Queso fresco artesanal? (sin pasteurizar) \_\_\_\_\_
- 10.- He tenido fiebre ondulante últimos 6 meses: \_\_\_\_\_ ó más de 6 meses: \_\_\_\_\_  
¿Cuál es el diagnóstico? \_\_\_\_\_
- 11.- ¿Ha repetido algún semestre en la carrera? \_\_\_\_\_ ¿Cuál? \_\_\_\_\_
- 12.- Ocupación: \_\_\_\_\_Cuál?: \_\_\_\_\_

(anverso)

RESULTADOS

Elisa IgG: \_\_\_\_\_ Grupos ABO \_\_\_\_\_ Rh \_\_\_\_\_

Aidez \_\_\_\_\_

---

### ANEXO III: PERMISOS UNIVERSIDAD AUSTRAL

#### Comité de ética

El consentimiento informado se hizo según las normas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS) [54,55].

El proyecto fue aprobado por el comité de ética de la Universidad Austral, se adjunta copia del documento.