

Bioquímica y Patología Clínica

Bioquímica y Patología Clínica

ISSN: 1515-6761

ISSN: 2684-0359

revista@aba-online.org.ar

Asociación Bioquímica Argentina

Argentina

Rodriguez, Agustina Ayelén; Gaitán, Analía Mariela; Leiva, Gustavo Fabián; Bovone, Nora Silvia; Miguez, Gabriela Sandra
Comparación de dos métodos de aglutinación para la detección de anticuerpos anti-Brucella en donantes de bancos de sangre
Bioquímica y Patología Clínica, vol. 88, núm. 2, 2024, Mayo-Agosto, pp. 28-34
Asociación Bioquímica Argentina
Buenos Aires, Argentina

DOI: <https://doi.org/10.62073/bypc.v88i2.244>

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=65182042004>

- ▶ [Cómo citar el artículo](#)
- ▶ [Número completo](#)
- ▶ [Más información del artículo](#)
- ▶ [Página de la revista en redalyc.org](#)

redalyc.org

Sistema de Información Científica Redalyc

Red de revistas científicas de Acceso Abierto diamante

Infraestructura abierta no comercial propiedad de la academia

ARTÍCULO ORIGINAL

Comparación de dos métodos de aglutinación para la detección de anticuerpos anti-Brucella en donantes de bancos de sangre

Comparison of two agglutination methods for detection of anti-Brucella antibodies in blood bank donors.

Rodríguez, Agustina Ayelén^{1*}; Gaitán, Analía Mariela¹; Leiva, Gustavo Fabián¹; Bovone, Nora Silvia²; Miguez, Gabriela Sandra³

¹Laboratorio de serología e ITT, Servicio de Bioquímica, Departamento de Diagnóstico y Tratamiento, Hospital Nacional Profesor Dr. Alejandro Posadas, El Palomar, Morón, Buenos Aires, Argentina.

²Laboratorio de Proteínas y Autoinmunidad, Servicio de Bioquímica, Departamento de Diagnóstico y Tratamiento, Hospital Nacional Profesor Dr. Alejandro Posadas, El Palomar, Morón, Buenos Aires, Argentina.

³Servicio de Hemoterapia, Hospital Nacional Profesor Dr. Alejandro Posadas, El Palomar, Morón, Buenos Aires, Argentina.

*Contacto: Rodríguez, Agustina Ayelén; Hospital Nacional Profesor Dr. Alejandro Posadas, Presidente Illia y Marconi S/N (C.P. 1685), El Palomar, Morón, Buenos Aires, Argentina; agustina-rodriguez@live.com

Resumen

Introducción: Una de las pruebas de tamizaje realizadas en donantes de bancos de sangre es la determinación de anticuerpos anti-*Brucella*. Este estudio plantea la utilización del test de Rosa de Bengala en reemplazo del test de Antígenos Febriles. **Objetivos:** Evaluar la concordancia entre observadores para la técnica de Rosa de Bengala. Evaluar la concordancia entre ambas técnicas. Estimar la proporción de muestras y donantes reactivos entre dos períodos distintos durante los cuales se utilizó una u otra técnica. **Materiales y Métodos:** Se realizó un estudio observacional, transversal y retrospectivo. Se utilizaron los resultados de pacientes que concurren al Servicio de Hemoterapia del Hospital Nacional Posadas entre el 01/11/2019 y el 18/08/2021. Ambas concordancias, entre observadores y en entre ambas técnicas - fueron evaluadas con el test kappa de Cohen. Las proporciones de donantes reactivos de cada período se contrastaron por test de comparación de dos proporciones. **Resultados:** La concordancia entre observadores arrojó un kappa de 0,78 [IC95%: 0,61 - 0,95]. La concordancia entre ambos test arrojó un kappa de 0,29 [IC95%: 0,15 - 0,43]. La proporción de donantes reactivos fue de 4,0 % para el período de Antígenos Febriles y de 1,6 % para el período de Rosa de Bengala. **Conclusiones:** Se observa una concordancia cualitativa aceptable entre ambos observadores; pero no, entre ambas técnicas. La diferencia de proporciones entre donantes reactivos de cada período fue altamente significativa. El cambio de metodología permitió aumentar la especificidad sin disminuir la sensibilidad. La utilización del test Rosa de Bengala posibilitó reducir el descarte de unidades de sangre.

Palabras clave: Anticuerpos anti-*Brucella*, Antígenos Febriles, Rosa de Bengala, Banco de Sangre.

Abstract

Introduction: One of the screening tests performed in blood bank donors is the determination of anti-*Brucella* antibodies. The present study proposes the use of the Rose Bengal test to replace the Febrile Antigens test. **Objectives:** i) To evaluate the interobserver agreement for the Rose Bengal technique and the inter-assay agreement between both techniques. ii) To estimate the sample proportion of reactive donors with either technique between two different periods. **Materials and Methods:** Observational, cross-sectional, retrospective study. The results of patients who attended the Hemotherapy Service of the National "Profesor Alejandro Posadas" Hospital (Buenos Aires, Argentina) from November 1st 2019 to August 18th 2021 were evaluated. Both interobserver and interassay agreement were evaluated with Cohen's Kappa test. The proportions of reactive donors of each period were contrasted through the two-proportion comparison test. **Results:** The interobserver agreement showed a Kappa of 0.78 [95%CI: 0.61 - 0.95], whereas the interassay agreement showed a Kappa of 0.29 [95% CI: 0.15 - 0.43]. The proportion of reactive donors was 4.0% for the Febrile Antigen period and 1.6% for the Rose Bengal period. **Conclusions:** An acceptable qualitative agreement was observed between both observers, but not between both techniques. The difference in proportions between reactive donors of each period was highly significant. The change in methodology allowed increasing the specificity without decreasing the sensitivity. The use of the Rose Bengal test reduced the discard of blood units.

Key words: Anti-*Brucella* Antibodies, Febrile Antigens, Rose Bengal, Blood Bank.

Introducción

El tamizaje en donantes de bancos de sangre abarca la determinación de distintos marcadores serológicos de infecciones transmisibles por transfusión (ITT) con el fin de prevenir su transmisión al futuro receptor. Una de las pruebas de tamizaje realizadas es la determinación de anticuerpos anti-*Brucella* mediante ensayos de aglutinación sobre portaobjetos o placas de vidrio. En el mercado, se encuentran disponibles distintos test, entre ellos, la prueba de aglutinación de Antígenos Febriles (AF) (Wiener Lab) y la de Rosa de Bengala (RB) (Monlab Test). Tanto AF como RB son pruebas útiles para el tamizaje de brucelosis humana, ya que no se necesita una infraestructura compleja ni un entrenamiento especial por parte del operador; además, son de bajo costo, gran difusión, rápidas y altamente sensibles. RB es una prueba recomendada por el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Brucelosis. Presenta como ventaja que, debido a su bajo pH, privilegia la aglutinación de anticuerpos de isotipo IgG, lo que la convierte, además, en una prueba específica¹. Esto hace que RB sea una de las pruebas recomendadas¹ para el tamizaje de anticuerpos anti-*Brucella* en donantes de bancos de sangre, ya que, además de su alta sensibilidad, tiene una adecuada especificidad que minimiza las reacciones cruzadas.

Marco teórico

La brucelosis es una zoonosis infectocontagiosa de distribución mundial, conocida desde hace muchos años, sin embargo, continúa siendo un problema sanitario y económico de envergadura² por las grandes pérdidas que genera, ya que afecta a varias especies de mamíferos, principalmente, animales domésticos (perro), ganado (vacas, cerdos, ovejas, cabras), además de fauna silvestre y marina. El hombre es considerado un huésped accidental. Es causada por bacterias del género *Brucella*, que incluye distintas especies. *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* y *B. canis* son las principales especies que provocan enfermedad en humanos. En nuestro país, la brucelosis es endémica. En el ser humano, puede presentarse de manera aguda o gradual y evolucionar a la cronicidad o bien, pasar clínicamente inadvertida. El diagnóstico tradicional comienza con la sospecha clínica de la enfermedad, pero muchas veces la sintomatología de la misma es inespecífica, lo que dificulta el diagnóstico clínico, y por eso, la realización de pruebas de laboratorio es de suma importancia. El diagnóstico de laboratorio puede realizarse a través de métodos directos aislando el microorganismo en cultivo de sangre, médula ósea o tejidos o por métodos indirectos (serológicos), a través de la detección de anticuerpos en suero.³ Si bien el aislamiento del microorganismo es el método de referencia, la mayoría de los pacientes son diagnosticados por métodos indirectos, que son de uso masivo por su mayor simpleza y accesibilidad², ya que no siempre es posible aislar el microorganismo. Existen pruebas serológicas de tamizaje y confirmatorias.

La brucelosis presenta dos patrones epidemiológicos: el

Tabla I. Concordancia entre dos observadores con dos categorías para la técnica RB.

		Observador 1	
		Reactivo	No reactivo
Observador 2	Reactivo	13	3
	No reactivo	3	88

► Se pueden observar seis resultados discordantes (reactivo/no reactivo) entre los dos observadores.

urbano - alimentario por consumo de alimentos contaminados como lácteos no pasteurizados o carnes mal cocidas y el rural - laboral por inhalación de aerosoles con alto inóculo bacteriano o contacto con secreciones de animales enfermos; además, en algunos países como el nuestro, también se considera como un agente de riesgo de transmisión la vía transfusional⁴⁻⁷. En Argentina, por medio de la Ley Nacional 22990 / 83, es obligatorio el tamizaje para detección de brucelosis como infección transmisible por transfusión para *B. melitensis*, *B. abortus* y *B. suis*, pero no, para *B. ovis* y *B. canis*, las cuales no están contempladas en la legislación. En nuestro país, la prevalencia estimada de test reactivos para brucelosis en bancos de Sangre osciló entre 0.39% y 1.09% en el período 2009 – 2019⁸. Un resultado reactivo puede corresponder a infección activa, pasada o reacción cruzada (falso positivo). Para los bancos de sangre, actualmente, se utilizan pruebas serológicas de tamizaje. Las características que estas deberían idealmente presentar son: alta sensibilidad y adecuada especificidad, para poder detectar a todos los individuos que podrían estar infectados. El resultado reactivo implica el descarte de la unidad (bolsa de sangre). Dentro de las pruebas de tamizaje, se encuentran las clásicas (Huddleson, Wright, fijación de complemento) y las más modernas (técnica de aglutinación con antígeno tamponado (BPA), prueba de aglutinación con Rosa de Bengala (RB), prueba de microaglutinación rápida en portaobjetos (RSAT)). Actualmente, en los bancos de sangre, las pruebas serológicas más comúnmente utilizadas son los ensayos de aglutinación, donde se emplean suspensiones de bacterias muertas y, de estar presentes los anticuerpos, se produce la reacción visible macroscópicamente como una aglutinación. El valor predictivo negativo de estas pruebas es elevado. La valoración adecuada de sus resultados requiere la utilización de un antígeno de calidad y bien estandarizado, ya que lo contrario es causa frecuente de títulos poco fiables y confusiones diagnósticas⁹.

Las cepas recomendadas por los organismos internacionales en la elaboración de las suspensiones antigénicas son *B. abortus* 1119-3 o 99 S. Estos antígenos permiten detectar anticuerpos anti-*B. abortus*, *suis* y *melitensis*¹⁵.

Por su rapidez, gran difusión, practicidad, bajo costo y elevada sensibilidad, RB y BPA son las recomendadas para tamizaje en bancos de sangre. Ambas, debido a su bajo pH,

privilegian la aglutinación de anticuerpos de isotipo IgG, dado que favorecen la expresión del componente aglutinante de los mismos, lo que las hace más específicas¹. BPA es ligeramente más sensible que RB¹.

RB es una prueba de aglutinación rápida, muy eficaz, que se utilizó inicialmente como prueba de cribado al permitir una aproximación diagnóstica en pocos minutos. No obstante, la experiencia práctica acumulada le ha concedido un protagonismo que va más allá del correspondiente a una simple prueba de cribado. El medio ácido en el que se efectúa la prueba favorece considerablemente la expresión del componente aglutinante de los anticuerpos que refleja infección actual. Su sensibilidad y especificidad para identificar anticuerpos aglutinantes anti-*Brucella* es muy elevada, de forma tal que solo excepcionalmente resulta negativa en la fase aguda de la infección y, con muy poca frecuencia, en las fases evolucionadas o crónicas de la enfermedad⁹.

El test de antígenos febriles (AF) de Wiener Lab es otro ensayo de aglutinación disponible comercialmente en nuestro país.

Objetivos

En primer lugar, evaluar la concordancia entre dos observadores para la técnica de Rosa de Bengala (RB), que fue implementada en reemplazo de la técnica de Antígenos Febriles (AF) para el tamizaje de brucelosis en donantes de Banco de Sangre en agosto del año 2020. En segundo lugar, evaluar la concordancia entre AF y RB, a la vez que estimar y comparar proporciones de muestras reactivas para brucelosis entre dos períodos durante los cuales se utilizó la técnica AF o la técnica RB y, finalmente, analizar esta diferencia en términos de unidades de sangre descartada.

Materiales y Métodos

Evaluación de la concordancia entre los observadores

Se seleccionaron prospectivamente 107 muestras de suero de donantes del Banco de Sangre que concurren al Servicio de Hemoterapia del Hospital Nacional Profesor Alejandro Posadas. La selección fue previa a la implementación del test RB, en el período comprendido entre los meses de marzo y agosto de 2020. Estas muestras presentaban resultados reactivos y no reactivos por la técnica AF. Para la realización de la técnica AF, se utilizó el reactivo de An-

tígenos Febriles de Wiener Lab (Santa Fe, Argentina). Las muestras con resultados reactivos fueron tituladas en placa de vidrio, según las especificaciones del fabricante, considerando reactivos aquellos títulos iguales a o mayores de 1/40. A su vez, dichas muestras fueron ensayadas para el test RB utilizando el reactivo de Rosa de Bengala de Monlab Test (Barcelona, España) y observadas a doble ciego por dos observadores entrenados. Las muestras con resultado reactivo fueron tituladas siguiendo las especificaciones del fabricante, quien considera reactivas aquellas muestras con título igual a o mayor de 25 UI/ml.

De esta forma, se evaluó la concordancia entre los observadores para la técnica RB con el coeficiente kappa de Cohen y se aceptó un coeficiente igual o superior a 0,70 (70%) para considerar una concordancia cualitativa entre ambos.

Evaluación de la concordancia AF-RB

Se procedió a evaluar la concordancia entre las técnicas de AF y RB utilizando 105 muestras de suero de donantes del Banco de Sangre que concurren al Servicio de Hemoterapia del Hospital Nacional Profesor Alejandro Posadas en el período comprendido entre los meses de marzo y agosto de 2020; dichas muestras fueron ensayadas en simultáneo para ambas técnicas. Aquellas con resultado reactivo fueron tituladas en cada caso siguiendo las especificaciones del fabricante. Se evaluó la concordancia entre ambas técnicas a través de la utilización del coeficiente kappa de Cohen y se aceptó un coeficiente igual o superior a 0,50 (50%) para considerar una concordancia cualitativa aceptable entre ambas técnicas.

Análisis comparativo entre los períodos AF y RB

Se realizó un estudio retrospectivo utilizando los resultados obtenidos mediante el sistema de gestión de laboratorio *Infinity* (Laboratorio Roche SA®) para las pruebas de AF (Wiener Lab®) y RB (Monlab Test®) utilizadas durante dos períodos distintos, respectivamente. Para el ensayo AF, se tuvieron en consideración los resultados obtenidos entre el 01/11/2019 y el 31/07/2020 (período AF), mientras que, para el ensayo de RB, se tuvieron en cuenta los resultados entre el 15/08/2020 y el 18/08/2021 (período RB). La población en estudio incluyó individuos de ambos sexos, entre

Tabla II. Concordancia en los ensayos de Antígenos Febriles vs. Rosa de Bengala.

		Antígenos Febriles	
		Reactivo	No reactivo
Rosa de Bengala	Reactivo	16	1
	No reactivo	36	52

► Se pueden observar 37 pares de resultados discordantes (reactivo/no reactivo) entre ambos métodos.

Tabla III. Proporción de muestras reactivas para test AF y RB.

	Antígenos Febriles	Rosa de Bengala
Nº muestras reactivas	212	129
Tamaño muestral	5908	7922
Proporción (%)	3,6	1,6

► Se observa una diferencia altamente significativa en la proporción de casos reactivos en ambos períodos.

Tabla IV. Proporción de donantes reactivos para test AF y RB.

	Antígenos Febriles	Rosa de Bengala
Nº donantes reactivos	198	114
Tamaño muestral	4998	7147
Proporción (%)	4,0	1,6

► Se observa una diferencia altamente significativa en la proporción de donantes reactivos en ambos períodos.

18 y 65 años, que concurren como donantes de sangre al Servicio de Hemoterapia del Hospital Nacional Profesor Alejandro Posadas.

Los resultados fueron extraídos del sistema *Infinity* (Laboratorio Roche SA®) y analizados mediante el uso del programa estadístico *Epidat*.

Para cada período, AF y RB, se analizaron la cantidad total de registros, la distribución de resultados para el total de muestras analizadas (equivalente a unidades de sangre donadas) y la proporción de muestras reactivas. Asimismo, se analizó la distribución de resultados según el número de donantes que acudieron al servicio y la proporción de donantes reactivos.

Para calcular el total de los donantes, se tuvieron en cuenta los registros replicados de las muestras analizadas asumiendo de este modo la donación por reposición y seleccionando de cada caso replicado el último de los registros con relación a las fechas. Este criterio se basó sobre el supuesto de que si en la última donación el resultado había sido no reactivo, en donaciones previas también lo había sido; ya que en caso de ser reactivo el individuo es retirado del circuito de donación.

Posteriormente, se efectuó un análisis de comparación de proporciones entre muestras reactivas de cada período y entre población de donantes reactivos de cada período. Se estimó un intervalo de confianza del 95 % para la diferencia de proporciones y se consideró significativa una diferencia superior al 5 %. Se compararon los datos demográficos de sexo y edad de cada período. La distribución por sexo se analizó por comparación de proporciones, mientras que la distribución por edad se analizó a través de gráfico de cajas y se realizó contraste con el test de Mann-Whitney.

Resultados

Evaluación de la concordancia ente observadores

Luego de realizar la concordancia entre observadores para la técnica de RB, se pudo observar un índice kappa de Cohen de 0,78 (EE 0,0863), con IC95% [0,61 - 0,95] y valor p: 0,00001. En la Tabla I, se pueden observar seis resultados discordantes [reactivo/no reactivo] entre los dos observadores.

Evaluación de la concordancia AF-RB

La concordancia entre las técnicas AF-RB arroja un índice kappa de Cohen de 0,29 (EE 0,0695), con IC95% [0,15 - 0,43], con un valor p: 0,0001. Si se observan los datos de la Tabla II, se pone de manifiesto el hallazgo de 37 pares de resultados discordantes [reactivo/no reactivo] entre ambos métodos.

Análisis comparativo entre los períodos AF y RB

Se obtuvieron mediante el sistema de gestión de laboratorio *Infinity* (Laboratorio Roche SA®) 14044 registros, con 14000 registros válidos. Se eliminaron resultados como NM (*nueva muestra*), NRM (*no remite muestra*), etc. Del total de 14000 registros, se analizó la distribución por servicio para seleccionar a los donantes de sangre del Servicio de Hemoterapia y resultó un total de 13840 donantes, de los cuales 5913 (42,7%) corresponden al test AF y 7927 (57,3%), al test RB.

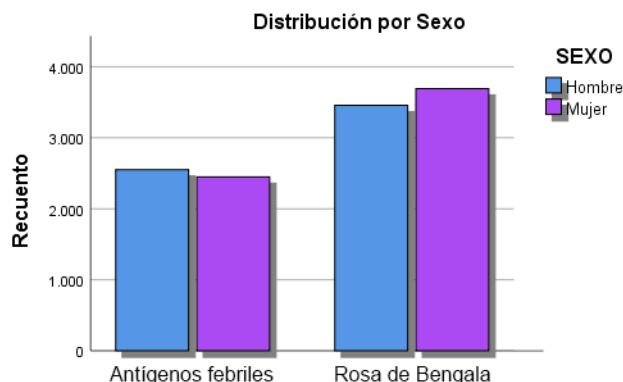
En el período AF, obtuvimos 5908 registros válidos, ya que se eliminaron de la casuística aquellos que no aportaban a los objetivos propuestos; de esta manera, se obtuvo un porcentaje de reactividad de 3,6 % (212 muestras entre 5908 resultados totales). La mayoría de los resultados reactivos obtenidos [178 reactivos de 212] se hallan en el valor de corte de la prueba [1/40].

Al tener en cuenta la donación por reposición, el total de muestras analizadas corresponde a una población menor de donantes. De esta manera, los 5908 registros corresponden a 4998 donantes, ya que 910 muestras fueron analizadas al menos dos veces. La proporción de donantes reactivos para el período AF fue de 4,0 % (198 reactivos de 4998). De la misma forma, podemos observar que la mayor proporción de reactividad se encuentra en el valor de corte de la prueba [1/40], dado que se hallan en este título 164 de los 198 donantes reactivos.

Por otro lado, el período RB comprende 7927 registros, de los cuales 5 fueron eliminados por no aportar resultado significativo a la casuística (por ejemplo, aquellos con resultado como MMR (*muestra mal remitida*), entre otros). Así, de los 7922 registros válidos, resultaron reactivos 129, de modo que el porcentaje de reactividad para el período RB fue de 1,6%.

Del mismo modo que para el período AF, se procedió a cuantificar los casos de donantes duplicados para el período RB, es decir, aquellos pacientes que en el período analizado concurren dos o más veces a donar al Servicio de Hemoterapia. Así, los 7922 registros corresponden a 7147 donantes; en cada caso duplicado, se seleccionó el último de los registros con relación a las fechas ya citadas. El porcentaje de donantes reactivos para el período RB fue entonces de 1,6%: 114 de los 7147 donantes. La mayoría de las muestras reactivas [119 de las 129 mencionadas] arrojaron resultados cercanos al valor de corte de la prueba, entre 25 UI/ml y 50 UI/ml. Lo mismo sucedió en el caso de los donantes reactivos testeados por RB: 105 de 114 donantes reactivos evidenciaron títulos bajos de reactividad.

Se procedió al análisis de comparación de proporciones de muestras reactivas de cada período, AF y RB; teniendo en cuenta el IC 95%, el resultado obtenido fue de 1,4 - 2,5 %, con

Figura 1. Distribución por sexo para los test Antígenos Febriles y Rosa de Bengala.

► No se observan diferencias significativas por sexo entre ambos métodos.

un valor $p: 0,00001$, lo que demuestra que la diferencia es altamente significativa. Estos resultados pueden observarse en la Tabla III. De este análisis, se desprende que, utilizando el test RB como prueba de tamizaje, cada 200 donaciones se descartan entre 3 y 5 unidades de sangre menos respecto del uso del test AF.

Si realizamos el mismo análisis de comparación de proporciones, pero teniendo en cuenta la proporción de donantes reactivos en los períodos AF y RB, el IC 95% arroja un resultado de 1,7 - 3,0%, con un valor $p: 0,00001$. De igual manera que para el caso anterior, la diferencia es altamente significativa y puede observarse en la Tabla IV.

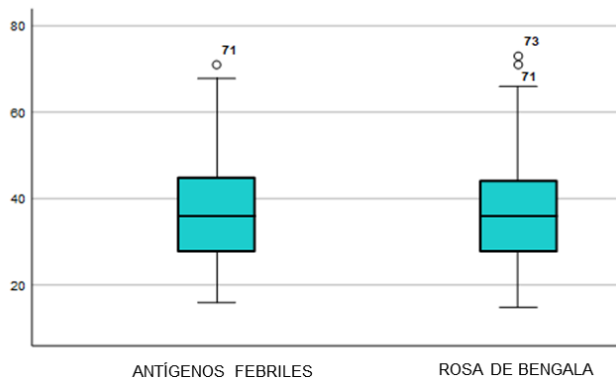
Además, se realizó la comparación de las proporciones de muestras reactivas en ambos períodos, AF y RB, según el sexo, y no se encontró una diferencia significativa en los resultados entre ambas poblaciones de donantes (ver Figura 1).

El test de Mann - Whitney se utilizó para contrastar la distribución por edades de los donantes reactivos en ambos períodos, y se obtuvo un $p: 0,347$, lo que indica que no existe una diferencia significativa en la distribución de la variable edad entre ambos grupos (ver Figura 2).

En la Figura 3 se pone de manifiesto que no se observa diferencia significativa en el porcentaje de reactividad entre el número de muestras y donantes para un mismo test (3,6 % muestras y 4,0 % donantes reactivos por AF) (1,6 % muestras y 1,6 % donantes reactivos por RB); pero por el contrario se observa una diferencia significativa en el porcentaje de reactividad entre ambos períodos AF/RB.

Discusión

Durante el mes de agosto del año 2020, se procedió a realizar el cambio en la metodología de tamizaje para brucelosis en donantes del Banco de Sangre que concurrían al Servicio de Hemoterapia del Hospital Nacional Profesor Alejandro Posadas. En nuestro laboratorio, se utilizaba la prueba de aglutinación de Antígenos Febriles de Wiener Lab® y, si bien la especificidad y la sensibilidad reportadas por el

Figura 2. Distribución por edad para los test Antígenos Febriles y Rosa de Bengala.

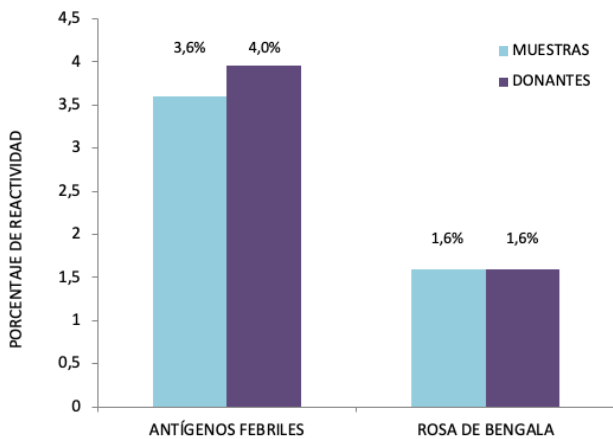
► No se observan diferencias significativas por rango etario entre ambos métodos.

fabricante para este ensayo son del 100 %, observábamos alta frecuencia de test reactivos a títulos bajos, lo que nos hacía pensar en posibles resultados falsos positivos. Por otra parte, la bibliografía documenta una mayor especificidad para el test Rosa de Bengala de Monlab Test®, por lo que se decidió implementar este último en reemplazo del test Antígenos Febriles (AF). Luego, se procedió en primer lugar a realizar la evaluación de la concordancia entre observadores para la nueva técnica empleada. Para ello se calculó el índice kappa de Cohen estableciendo como requisito una concordancia mayor de 0,7 (70 %). El resultado obtenido fue de 0,78 (EE: 0,0863), con IC 95%: 0,61-0,95, lo que nos indica que existe un acuerdo satisfactorio entre los dos observadores. Este hecho adquiere relevancia para asegurar la repetibilidad y trazabilidad de los resultados, independientemente del observador que realice el ensayo cada día.

Posteriormente, se realizó el ensayo de concordancia entre las técnicas AF y RB. El cálculo del índice kappa de Cohen arrojó un resultado de 0,29 (EE: 0,0695), con IC 95%: 0,15-0,43; este resultado se encuentra por debajo del mínimo establecido de 0,50 (50 %), lo que indica un acuerdo cualitativo no aceptable entre ambas técnicas. Si se observa la distribución de los resultados discordantes entre ambas técnicas, se pone de manifiesto que todos ellos se encuentran dentro del valor de corte para la técnica AF, establecido en 1/40, mientras que títulos superiores como 1/80 o 1/160 arrojan resultado reactivo para RB. Este hecho se fundamenta en la mayor especificidad que presenta el test RB que, debido a su bajo pH, favorece la aglutinación de anticuerpos isotipo IgG específicos en mayor proporción respecto del reactivo de AF y minimiza de este modo las posibles interferencias y reacciones cruzadas que arrojan resultados falsamente positivos.

Luego, se procedió a analizar el impacto en el cambio de técnica AF por RB. Al comparar las proporciones de donantes con resultado reactivo durante dos períodos distintos, donde se emplearon cada uno de los métodos, se observó

Figura 3. Proporción de reactividad en dos períodos para los test Antígenos Febriles y Rosa de Bengala.



► Se observa una diferencia significativa en el porcentaje de reactividad entre ambos períodos AF/RB.

que la diferencia de proporciones entre donantes reactivos de cada período fue altamente significativa, con una proporción del 4,0 % para el período AF (198 reactivos de 4998) y del 1,6 % para el período RB (114 reactivos de 7147). Los resultados obtenidos resultan esperables, si se tiene en cuenta, como se mencionó anteriormente, la elevada especificidad que presenta la técnica de RB en comparación con la técnica de AF. El fabricante del reactivo RB reporta en el inserto que el reactivo está compuesto por una suspensión de *B. abortus* cepa S99, pH 3,6, mientras que el reactivo AF contiene una suspensión de antígenos de *B. abortus* cepa 1119-3 en solución fisiológica^{10,11}. Ambos utilizan cepas antigénicas recomendadas por organismos internacionales, y la diferencia radica en el pH ácido que utiliza el reactivo RB. De este modo, el cambio de reactivo permitió aumentar la especificidad en el tamizaje sin disminuir la sensibilidad.

Los títulos reactivos para ambas técnicas fueron bajos, en el rango de 1/40 a 1/160 para AF, con 178 de 212 registros reactivos de 1/40, mientras que se observaron resultados en el rango de 25 UI/ml a 100 UI/ml para RB, con 119 de 129 registros reactivos en el rango de 25 UI/ml a 50 UI/ml. Estos resultados reactivos a títulos bajos sugieren resultados falsos positivos en ambos casos. Según el fabricante de AF, son concluyentes de enfermedad solamente títulos mayores de 1/320.

Partiendo del supuesto de que todos los individuos incluidos en el estudio son personas sanas, ya que superaron exitosamente el cuestionario previo a la donación, observamos una proporción de muestras reactivas de 1,6 % para el test RB, mientras que el porcentaje asciende a 3,6 % para el test AF. Este hecho apoya la sospecha de la existencia de una mayor proporción de falsos positivos para el test AF.

Si se tiene en cuenta que la proporción de donantes reactivos para el período RB fue de 1,6 %, se puede ver que este resultado se corresponde con el 1,4 % observado por Marder G.¹², mientras que, según MSAL, en Argentina la prevalen-

cia estimada de test reactivo para brucelosis en bancos de sangre es del 1 %, ligeramente inferior a la encontrada en este estudio. Acá cabe discutir la metodología utilizada en cada caso y la adecuada notificación a MSAL, sin embargo, a pesar de esto, la cifra de 1,6 % se acerca más en cuanto a proporción de donantes reactivos reportada por otros autores. Por otra parte, se debe tener en cuenta que los test de aglutinación pueden presentar reacciones cruzadas con otras enterobacterias que no son *Brucella* por similitud de la estructura antigénica de *Brucella* con otros microorganismos (incluso el suero de individuos vacunados contra cólera puede presentar reacciones cruzadas)¹³.

Para descartar cambios en los factores de riesgo de la población de donantes entre ambos períodos, se analizó la distribución por sexo y edad de cada período, y no se encontraron diferencias significativas entre ambos sexos ni por rango etario, por lo que la disminución en el porcentaje de reactividad entre el período AF y RB puede atribuirse a una mayor especificidad de la técnica RB y no, a cambios en los factores de riesgo de la población estudiada.

Finalmente, una de las conclusiones que se desprenden del análisis realizado fue que, mediante la implementación del test RB, se descartan entre 3 y 5 unidades de sangre menos cada 200 analizadas. El cambio en el método de tamizaje por el test RB posibilitó reducir la exclusión de unidades de sangre que, de haberse usado el test AF, hubieran sido descartadas y, por lo tanto, permitió mayor disponibilidad de estas. Este hecho deriva a su vez en una menor necesidad de una nueva citación de donantes, que implica la notificación y repetición de ensayos y/o derivación del paciente al hospital o centro de referencia para confirmar la sospecha diagnóstica, y en la reducción de los costos consecuentes. Por lo expuesto anteriormente, concluimos que el test RB supera al test AF en cuanto a especificidad y, por lo tanto, en la reducción de detección de falsos positivos.

Referencias bibliográficas

1. Ministerio de Salud de Argentina. Enfermedades infecciosas, Brucelosis, Guía para el equipo de salud. Número 12. Buenos Aires, Argentina, Ministerio de Salud; 2013.
2. Castro HA, Gonzalez SR, Prat MI. Brucelosis: una revisión práctica. Acta Bioquím. Clin. Latinoam. 2005;39(2):203-16. ISSN [0325-2957].
3. Falquez C, Patiño C. Diagnóstico serológico (Rosa de Bengala) y molecular (PCR) de brucelosis en humanos. Ciencia y Tecnología. 2010;3(1):27-32. DOI: 10.18779/cyt.v3i1.86
4. Blejer J, Carreras Vescio L, Salamone H. Riesgo de transmisión de infecciones por vía transfusional. Medicina [Buenos Aires]. 2002;62(3):259-278. ISSN [0025-7680].
5. Wang W, Liao Q, Wu X, Hou S, Wang Y, Wu J, Shen C, Chen S, Allain JP, Li C. Potential risk of blood transfusion-transmitted brucellosis in an endemic area of China. Transfusion. 2015;55(3):586-92. DOI: 10.1111/trf.12853
6. Doganay M, Aygen B, Esel D. Brucellosis due to blood transfusion. J Hosp Infect. 2001;49(2):151-52. DOI: 10.1053/jhin.2001.1004
7. Akçakus M, Esel D, Çetin N, Paç-Kissarslan A, Kurtoglu S. Brucella melitensis en cultivos de sangre de dos recién nacidos debido a una transfusión de intercambio. Turk J Pediatr. 2005;47(3):272-4. PMID: 16250315
8. Boletín integrado de vigilancia. Dirección Nacional de Epidemiología y

- Análisis de la Situación de Salud Ministerio de Salud y Desarrollo Social de la Nación. República Argentina. 2019;458:35-45.
9. Cardenal J. Brucelosis: aspectos actuales de principal interés. Control Calidad SEIMC. Servicio Enfermedades Infecciosas, C.S.U. de Bellvitge. *Rev Esp Quimioter.* 2006;19(3):237-243.
 10. Monlab Test. Rose de Bengala [Número de catálogo MO-165016]. Montornès del Vallès, España: Monlab Test; [consultada 29 de abril de 2023]. Disponible en: <https://www.monlab.es/document/Microbiologia/Rosa%20de%20bengala/IFU%20rosa%20bengala%20monlabtest.pdf>
 11. Wiener Lab. Antígenos Febriles [Número de referencia UR130715]. Rosario, Argentina: Wiener Lab; [consultada 29 de abril de 2023]. Disponible en: <https://access.wiener-lab.com/VademecumDocumentos/Vademecum%20espanol/antigenos%20febriles.sp.pdf>
 12. Marder G, Franco Sycz AE, Czernik GE, Durán G. Seroprevalencia de brucelosis en hemodonantes del Banco de Sangre de Corrientes, Argentina. *Revista Argentina de Veterinaria* [en línea]. 2012 [consultada el 29 de abril de 2023]; 33(3): 144-147. DOI: 10.30972/vet.1621976
 13. Ruiz Castañeda M. Laboratory diagnosis of brucellosis in man. *Bull World Health Organ.* 1961;24(1):73-84. PMID: 13744655
 14. Díaz R, Casanova A, Ariza J, Moriyón I. The Rose Bengal Test in human brucellosis: a neglected test for the diagnosis of a neglected disease. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011 Apr 19;5(4):e950. DOI: 10.1371/journal.pntd.0000950
 15. Torres-Padilla JC, López-Merino A, García-Escamilla RM, Gutiérrez-García JN. Seroprevalencia de anticuerpos anti-Brucella en disponentes de sangre con fines terapéuticos en tres bancos de sangre del Instituto Mexicano del Seguro Social. *Gac Med Mex* [revista en la Internet]. 2004 Ago [consultado 29 de abril de 2023]; 140(4): 391-398. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0016-38132004000400004&lng=es. ISSN 0016-3813
 16. Álvarez-Hernández M, Díaz-Flores M, Ortiz-Reynoso M. Brucelosis, una zoonosis frecuente. *Revista de Medicina e Investigación* [en línea]. 2015; 3(2): 129-133. DOI: 10.1016/j.mei.2015.07.002
 17. Ministerio de Salud de la Nación. Dirección de Sangre y Hemoderivados. Resolución 1507/2015, de 14 de septiembre, por el que se aprobasen las modificaciones y anexos de las "normas administrativas y técnicas" y los "criterios de selección de donantes de sangre". *Boletín Nacional.* 2015 Sep 18. Consultado el 29 de abril de 2023. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/normativa/nacional/resolucion-1507-2015-252134/texto>
 18. Picazo JJ, Fuertes Ortiz de Urbina A. Diagnóstico serológico de la brucelosis. En: Coordinación. *Protocolos de Diagnóstico Serológico Clínico.* Núm. 4. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo, Centro Nacional de Microbiología; 1996. p. 1-18. Disponible en: <http://coli.usal.es/web/abydl/biblioteca/bibelectro.alu/documentos/protocolos3/brucelosis/brucelosis.html>



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Atribución - No Comercial - Compartir Igual 4.0 Internacional - Permite compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que: se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.