

# Estudio comparativo del test Brucellacapt con el test de Coombs para *Brucella*

M. Concepción Gómez, Carmen Rosa\*, Paloma Geijo\*, M. Ángeles Escribano

Sección de Microbiología y \*Servicio de Medicina Interna (Unidad de Enfermedades Infecciosas). Hospital Virgen de la Luz. Cuenca.

**OBJETIVO:** Comparar los resultados obtenidos con los tests de Coombs para *Brucella* y Brucellacapt.

**MATERIALES Y MÉTODOS:** Se analizaron 145 sueros de 112 pacientes con brucelosis o sospecha de esta infección debido a sus actividades ocupacionales. A todos los sueros se les realizó rosa de Bengala, aglutinaciones si el rosa de Bengala era positivo, test de Coombs y Brucellacapt.

**RESULTADOS:** Hubo correlación entre ambas técnicas ( $p < 0,01$ ). Los sueros con resultado negativo por el test de Coombs, así como la mayoría de los sueros con titulación entre 1/40 y 1/2.560, presentaban por Brucellacapt un resultado idéntico o dentro de un rango de 1-2 diluciones respecto al test de Coombs. Sin embargo, en las titulaciones elevadas de test de Coombs (1/5.120 a 1/40.960) los valores de Brucellacapt fueron mucho más elevados y es difícil definir un título.

**CONCLUSIONES:** Brucellacapt es un test de fácil ejecución que permite descartar la infección y obtener resultados similares al test de Coombs en titulaciones entre 1/40 y 1/2.560. En general, se obtienen títulos más elevados y rápidos en los casos de brucelosis aguda. La evolución de los títulos de Brucellacapt parece seguir un curso similar al test de Coombs. Tiene el inconveniente de que en titulaciones elevadas es difícil definir el título.

**Palabras clave:** Brucelosis. Diagnóstico. Coombs para *Brucella*. Inmuncaptura.

Comparative study of the Brucellacapt test versus the Coombs test for *Brucella*

**BACKGROUND:** To compare the results obtained by *Brucella* Coombs' test with those obtained by Brucellacapt.

**MATERIAL AND METHODS:** 145 serum samples from 112 patients with brucellosis or with brucellar infection suspected on clinical grounds and a history of

occupational exposure were analyzed. All serum samples were tested for Rose Bengal, agglutinations whenever Rose Bengal was positive, *Brucella* Coombs' test and Brucellacapt.

**RESULTS:** There was a direct correlation between both methods ( $p < 0.01$ ). Negative serum samples and most serum samples with titres between 1/40 and 1/2,560 as tested by *Brucella* Coombs' test showed similar results into a range of one to two dilutions by Brucellacapt. However, serum samples with titres between 1/5,120 and 1/40,960 by *Brucella* Coombs' test yielded also higher titres by Brucellacapt and for this reason we were unable to define a titre.

**CONCLUSIONS:** Brucellacapt is a rapid assay to exclude infection and yield results comparable to *Brucella* Coombs' test in range 1/40 to 1/2,560. Significantly higher and more rapid titres were obtained in acute brucellosis by Brucellacapt as compared with those obtained by *Brucella* Coombs' test. Titre's evolutions by Brucellacapt is similar to *Brucella* Coombs' test. Unfortunately it was difficult the titres definition of Brucellacapt at high titres.

**Key words:** Brucellosis. Diagnostic. Coombs' *Brucella*. Immunocapture.

## Introducción

La brucelosis es una zoonosis ampliamente difundida en algunas regiones del mundo que persiste a pesar de los esfuerzos para su erradicación<sup>1-3</sup>. España tiene una de las mayores prevalencias de brucelosis y es endémica en diversas comunidades, entre ellas Castilla-La Mancha. Las pruebas más empleadas en el diagnóstico serológico de la brucelosis son el rosa de Bengala, la aglutinación, el test de Coombs y las pruebas de ELISA (enzimoinmunoanálisis)<sup>4-6</sup>. Mientras que en las formas agudas todas las pruebas serológicas son sensibles para el diagnóstico de brucelosis, en las fases más evolucionadas sólo utilizando el enzimoinmunoanálisis y el test de Coombs se puede descartar la enfermedad<sup>7-9</sup>. El test de Coombs se ha utilizado ampliamente en nuestro país, pero la laboriosidad de su ejecución hace que en muchas ocasiones no se realice de forma habitual. Brucellacapt es una prueba de inmuncaptura-aglutinación para la detección de anticuerpos totales frente a *Brucella* de reciente introducción. Permite detectar anticuerpos aglutinantes y también incompletos que sólo serían detectados mediante el test de Coombs. El objetivo de

Correspondencia: Dra. M.C. Gómez.  
Sección de Microbiología. Servicio de Análisis Clínicos.  
Hospital Virgen de la Luz.  
Hermandad de Donantes de Sangre, 1. 16002 Cuenca.

Manuscrito recibido el 26-10-1998; aceptado el 10-3-1999.

*Enferm Infecc Microbiol Clin* 1999; 17: 283-285.

TABLA 1. Relación entre los resultados obtenidos por los tests de Coombs y Brucellacapt

Coombs		Brucellacapt												
Título	N.º	Negativo	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1.280	1/2.560	1/5.120	1/10.240	1/20.480	1/40.960	> 81.920
Negativo	33	31	2											
1/40	4	1	3											
1/80	11		2	2	3	3	1							
1/160	10				3	4	1	1		1				
1/320	10			2	3	2	3							
1/640	18				2	4	6	4	2					
1/1.280	13					2	1	3	2	3				2
1/2.560	12				1		1	2	2	3				3
1/5.120	11									2	1			8
1/10.240	13									1				12
1/20.480	5											1		4
1/40.960	5										1	1		3

N.º: número de sueros.

este trabajo es comparar los resultados obtenidos mediante el test de Coombs y Brucellacapt.

## Materiales y métodos

### Sueros

Para llevar a cabo el presente estudio se analizaron 145 sueros de 112 personas con brucelosis o sospecha de infección debido a sus circunstancias de alto riesgo, es decir, área endémica y ocupaciones relacionadas con el contacto con animales. A todos los sueros se les realizó rosa de Bengala, aglutinaciones si el rosa de Bengala era positivo, test de Coombs y Brucellacapt.

### Test de Coombs

Se realizó por una técnica de microaglutinación utilizando como antígeno una suspensión de *Brucella abortus* muertas por calor y fenol (Sanofi-Pasteur). El test se realizó en placas de microtiter con fondo en U. Se realizaron diluciones seriadas comenzando en 1/20 hasta 1/40.960 con solución salina y añadiendo una cantidad equivalente del antígeno. Las placas fueron incubadas durante 2 h a 37 °C y centrifugadas a 3.000 rpm durante 5 min.

Tras esta centrifugación se eliminó el sobrenadante invirtiendo la placa y sacudiendo con fuerza. De nuevo se añadió solución salina, se agitó y se volvió a centrifugar. Esta operación de lavado se realizó 3 veces. A continuación se añadieron 10 µl de antiglobulina humana coloreada (Ortho Diagnostic Systems) y se incubó a 37 °C durante 18-24 h. Transcurrido este tiempo se efectuó la lectura.

### Brucellacapt

Se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante (Vircell-Innogenetics). La prueba consta de tiras de pocillos de fondo en U que contienen inmunoglobulinas antihumanas. Tras la adición de los sueros y su dilución seriada con el diluyente se añadió el antígeno, consistente en una suspensión de *B. abortus* coloreada y muerta por calor y tratamiento con formaldehído al 0,5%. Tras incubación a 37 °C durante 24 h en cámara húmeda, se realizó la lectura.

### Estadística

Se realizó un estudio de correlación entre los títulos obtenidos por test de Coombs y Brucellacapt mediante el coeficiente de correlación no paramétrico de Spearman.

## Resultados

Los resultados obtenidos por el test de Coombs y Brucellacapt se recogen en la tabla 1. Hubo correlación entre

ambas técnicas, el coeficiente de correlación fue de 0,937 y fue significativa en 0,01.

Los sueros con resultado negativo por el test de Coombs, así como la mayoría de los sueros con titulaciones entre 1/40 y 1/2.560, presentaban por Brucellacapt un resultado idéntico o dentro de un rango de 1-2 diluciones respecto al test de Coombs (variación aceptable en una técnica semicuantitativa). Sin embargo, en las titulaciones altas de test de Coombs (1/5.120 a 1/40.960), los valores de Brucellacapt fueron mucho más elevados, hasta el punto de que en muchos sueros no es posible establecer un título final. Hay que señalar que en estos sueros de titulaciones elevadas permaneció en el pocillo una aglutinación residual de difícil interpretación.

## Discusión

El diagnóstico serológico de la brucelosis no ha experimentado grandes cambios en los últimos años. Los test de enzimoimmunoanálisis y el test de Coombs son pruebas útiles, tanto en la fase aguda como en las formas más evolucionadas. En el test de Coombs se detectan anticuerpos incompletos que son capaces de reaccionar con el antígeno, pero que no tienen la capacidad de aglutinarlo, por lo que es necesario añadir en un paso posterior un suero antiinmunoglobulina humana para poder visualizar la reacción. En España, el test de Coombs se ha utilizado ampliamente<sup>10-12</sup>. Es una prueba de ejecución sencilla pero laboriosa, por lo que a veces no se realiza de forma habitual, pudiendo quedar casos de brucelosis sin diagnosticar. Brucellacapt es una prueba de inmunocaptura, presentada recientemente, que permite detectar anticuerpos aglutinantes y también incompletos, que sólo serían detectados por test de Coombs. Son, por tanto, tests similares, pero Brucellacapt podría aportar la ventaja de su fácil ejecución, y además, la dilución de los sueros y la adición de reactivos podría realizarse de forma automatizada.

Todos los sueros negativos por el test de Coombs también lo fueron por Brucellacapt, con la excepción de 2 sueros que presentaban un título de 1/40. Este título no es significativo, lo que indica que Brucellacapt es un método rápido y sencillo para descartar la infección.

En el rango de titulaciones del test de Coombs de 1/40 a 1/320, los resultados de Brucellacapt son similares.

Tres sueros presentaban, no obstante, titulaciones por encima del rango aceptable. Dos de ellos pertenecían a pacientes con brucelosis aguda en los que Brucellacapt proporcionó una titulación más elevada, y el tercer suero era de un paciente cuya evolución clínica fue satisfactoria y en el que los títulos de test de Coombs habían ido descendiendo en varios controles serológicos.

Análogamente, en el rango de test de Coombs 1/640 a 1/2.560, en 37 sueros se observaron rangos de titulación superponible (23 sueros eran de pacientes con brucelosis agudas y 14 de pacientes con infección diagnosticada en los meses previos con buena evolución). De los 5 sueros con titulaciones de Brucellacapt superiores a 1/81.920, cuatro se correspondían con brucelosis agudas recién diagnosticadas y el quinto suero pertenecía a un paciente diagnosticado un año antes en el que no se pudo realizar un seguimiento. El suero con test de Coombs 1/2.560 y Brucellacapt 1/160 correspondía a una brucelosis con buena evolución, en el que el título de Brucellacapt podría haber descendido más rápidamente.

En el rango de test de Coombs 1/5.120 a 1/40.960, de 34 sueros estudiados, siete presentaban rango de titulación coincidente por test de Coombs y Brucellacapt, y 27 presentaban títulos de Brucellacapt mayores de 1/81.920. De éstos, 20 se correspondían a brucelosis agudas, y 7 sueros pertenecían a pacientes que, si bien habían sido diagnosticados en los 8-12 meses previos, habían tenido una evolución más tórpida, con recaídas o persistencia de la sintomatología.

De todos estos resultados se deduce que, en brucelosis aguda, en general, los títulos de Brucellacapt tienden a ser más elevados y quizás se incrementen más rápidamente que los del test de Coombs, pero habitualmente de forma proporcionada con los resultados de este último. Esta hipotética precocidad de Brucellacapt debería ser confirmada en estudios de seguimiento serológico con ambas técnicas. Los principales inconvenientes de Brucellacapt en estas titulaciones tan elevadas es la imposibilidad de definir un título, así como la difícil interpretación de los «residuos de aglutinación» en los pocillos. Es posible que con el incremento de la concentración de antígeno pudiera soslayarse este problema.

El descenso de los títulos de Brucellacapt parece seguir un curso semejante al del test de Coombs, si bien

debería confirmarse realizando un seguimiento en pacientes con brucelosis para corroborar este hecho.

A la vista de todos estos resultados podemos concluir: a) Brucellacapt es un test de fácil ejecución, susceptible de semiautomatización, que permite descartar la infección y obtener resultados similares al test de Coombs, presentando el mayor paralelismo en titulaciones comprendidas entre 1/40 y 1/2.560; b) en general, se obtienen títulos más elevados y quizás más tempranamente en brucelosis agudas; c) la evolución de los títulos de Brucellacapt parece seguir un curso similar al test de Coombs, y d) tiene el inconveniente de que en titulaciones elevadas es difícil definir el título.

#### Bibliografía

1. Wise RI. Brucellosis in the United States: past, present and future. *JAMA* 1980; 244: 2.318-2.322.
2. Salvador FJ. Distribución espacial y tendencia de la brucelosis en España. En: Baquero F, Buzón L, editores. *Brucelosis*. Madrid: Garsi, S.A. 1985; 161-172.
3. Ortona L, Cauda R, Ventura G, Tumbarello M, Ballada D, Branca G. Ten years of brucellosis in Italy (1977-1986). *Eur J Epidemiol* 1988; 4: 503-505.
4. Díaz R, Maraví-Poma E, Fernández S, García Merlo S, Rivero A. Brucelosis: estudio de 222 casos. Parte IV: diagnóstico de la brucelosis humana. *Rev Clin Esp* 1982; 166: 107-110.
5. Díaz R, Moriyon I, Gamazo C, Alonso-Urmeneta B, De la Viuda M. Laboratory diagnosis of human brucellosis. En: Young EJ, Corbel MJ, editores. *Brucellosis: clinical and laboratory aspects*. Boca Raton (Florida): CRC Press, 1989; 73-83.
6. Martín S, Guinea L, Carrero P, Visedo R, García S, Calvo T et al. El diagnóstico de la brucelosis en un área endémica. Valoración de las pruebas diagnósticas habituales. *Med Clin (Barc)* 1992; 98: 481-485.
7. Klerk E, Anderson R. Comparative evaluation of the enzyme-linked immunosorbent assay in the laboratory diagnosis of brucellosis. *J Clin Microbiol* 1985; 21: 381-386.
8. Araj GF, Lulu AR, Mustafa MY, Khateeb MI. Evaluation of ELISA in the diagnosis of acute and chronic brucellosis in human beings. *J Hyg Camb* 1986; 97: 457-469.
9. Pellicer T, Ariza J, Foz A, Pallarés R, Gudiol F. Specific antibodies detected during relapse of human brucellosis. *J Infect Dis* 1988; 157: 918-924.
10. Maraví-Poma E, Murie M, Gamboa J, Díaz R, Rivero-Puente A. Brucelosis: estudio sobre 222 casos. Parte III: brucelosis crónica. Estudio clínico prospectivo de 36 casos. *Rev Clin Esp* 1982; 166: 101-105.
11. Sánchez-Sousa A, Torres C, Campello MG, García C, Parras F, Cercenado E et al. Serological diagnosis of neurobrucellosis. *J Clin Pathol* 1990; 43: 79-81.
12. Ariza J. Diagnóstico de la brucelosis en la actualidad. *Med Clin (Barc)* 1992; 98: 494-496.