

Universidade Federal de Minas Gerais
Conselho de Pós-Graduação
Escola de Veterinária

RELAÇÕES ENTRE PERCENTAGENS DE REAGENTES DA PROVA DE SORO-
AGLUTINAÇÃO RÁPIDA E DO TESTE DO CARTÃO EM BRUCELOSE BOVINA

Rabindranath Loyola Contreras

Belo Horizonte
Minas Gerais
1981

Rabindranath Loyola Contreras

RELAÇÕES ENTRE PERCENTAGENS DE REAGENTES DA PROVA DE SORO-
AGLUTINAÇÃO RÁPIDA E DO TESTE DO CARTÃO EM BRUCELOSE BOVINA

Tese apresentada à Escola de
Veterinária da Universidade
Federal de Minas Gerais, co-
mo parte dos requisitos para
a obtenção do grau de Mestre
em Medicina Veterinária.

Área: Epidemiologia.

Belo Horizonte
Minas Gerais
1981

616.981.42:636.2 Loyola Contreras, Rabindranath, 1933
923r Relações entre percentagens de reagentes da prova de soroaaglutinação rápida e do teste do cartão em brucelose bovina.

Belo Horizonte, UFMG, 1981.

36p. ilustr.

Bibliografia

Tese (Mestrado) Escola de Veterinária- UFMG

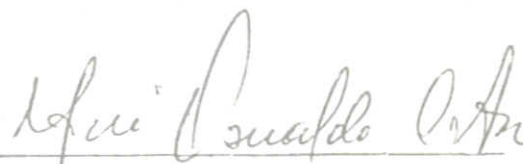
1. Doença animal - Brucelose - Bovino. 2. Brucelose - Testes sorológicos. 3. Brucelose - Imunidade. 4. Zoonose. I. Título

CDD 616.981.42:636.2

Aprovada em 30/03/1981



Prof. ÉLVIO CARLOS MOREIRA
- Orientador -



Prof. JOSÉ OSWALDO COSTA



Prof. FRANCISCO CECÍLIO VIANA

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. ÉLVIO CARLOS MOREIRA, por seu estímulo sempre positivo e criador, por seu permanente apoio.

Aos meus companheiros do DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA.

À FUNDAÇÃO DE ESTUDO E PESQUISA EM MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA, pela impressão da presente tese.

Ao Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pelo apoio financeiro ao Programa de Mestrado em Epidemiologia.

À Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

A todos os que, direta ou indiretamente, cooperaram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Frente à brucelose bovina e dado um estrato geográfico, algumas características globais, como percentagem de reagentes a determinados níveis sorológicos e densidade bovina, estão objetivamente relacionados em diferentes grupos de bovinos localizados no estrato. Especialmente "percentagem de reagentes a 1/50, positivos ao Card Test" e "percentagem de reagentes a 1/100, positivos ao Card Test" apresentam uma correlação curva - $r = 0,82$ ($p \leq 0,01$); "percentagem de reagentes a 1/50" e "percentagem de reagentes a 1/100" apresentam uma correlação simples $r = 0,69$ ($p \leq 0,01$); "percentagem de reagentes a 1/100" apresentam uma correlação simples - $r = 0,69$ ($p \leq 0,01$); "percentagem de reagentes a 1/100 + reagentes a 1/200 + reagentes a 1/50, positivos ao Card Test" e "percentagem de reagentes a 1/50" e "densidade bovina" apresentam correlação múltipla $r_{1.23} = 0,73$ ($p \leq 0,01$). De tal maneira que algumas destas características globais podem se expressar - no conjunto dos estratos - como função de outras proporcionando mais alguns elementos de juízos para a avaliação de taxas de prevalência.

Assim, "percentagem de reagentes a 1/50, positivos ao Card Test" (Y) pode calcular-se em função de "percentagem de reagentes a 1/100, positivos ao Card Test" (X) por meio da equação:

$$Y = 16,75 - 0,44X + 0,009X^2;$$

"percentagem de reagentes a 1/50" (Y) pode calcular-se como função de "percentagem de reagentes a 1/100" (X) por meio da equação:

$$Y = 3,84 + 1,48X;$$

"percentagem de reagentes a 1/100 + reagentes a 1/200 + reagentes a 1/50, positivos ao Card-Test" (X_1) pode calcular-se em função de "percentagem de reagentes a 1/50" (X_2) e "densidade bovina" (X_3) por meio da equação:

$$X_1 = -1,19 + 0,41X_2 + 4,29X_3.$$

Quanto maior é o número de características globais consideradas simultaneamente, as relações mencionadas tendem a se fortalecer.

SUMÁRIO

	<u>Página</u>
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	6
3. MATERIAL E MÉTODOS	9
3.1. Método de amostragem	9
3.2. Organização técnico-administrativa	13
3.3. Variáveis estudadas em cada estrato ou cada Estado	14
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4.1. Relações entre "percentagem de reagentes a 1/50, positivos ao Card Test" e outras variáveis	16
4.1.1. Com "percentagem de reagentes a 1/50" (variável c)	16
4.1.2. Com "percentagem de reagentes a 1/100" (variável d)	16
4.1.3. Com "percentagem de reagentes a 1/200" (variável e)	17

Página

4.1.4. Com "percentagem de reagentes a 1/100 ou 1/200" (variável f)	17
4.1.5. Com "percentagem de reagentes a 1/100, positivos ao Card Test" (variável b)	18
4.1.6. Com as outras variáveis	19
4.1.7. Com "percentagem de reagentes a 1/50" e com "percentagem de reagentes a 1/100 ou 1/200" (correlação múltipla)	20
4.2. Relação entre "percentagem de reagentes a 1/100, positivos ao Card Test" e "percentagem de reagentes a 1/100" (relação entre "b" e "d")	20
4.3. Relação entre "percentagem de reagentes a 1/50" e "percentagem de reagentes a 1/100" (relação entre "c" e "d")	21
4.4. Relação "percentagem de reagentes a 1/100 ou 1/200 + suspeitos, positivos ao Card Test" com "percentagem de reagentes a 1/100 ou 1/200" (relação entre "g" e "f")	22
4.5. Relação entre "percentagem de reagentes a 1/200 + reagentes a 1/100 ou 1/50, positivos ao Card Test" com percentagem de reagentes a 1/100 ou 1/200" (relação entre "h" e "f")	23

Página

4.6. Relação entre "percentagem de reagentes a 1/100 + reagentes a 1/200" com "percentagem de reagentes a 1/50" e com "densidade bovina" (correlação múltipla de "f" com "c" e com "i")	24
4.7. Relação entre "percentagem de reagentes a 1/100 + reagentes a 1/200 + reagentes a 1/50, positivos ao Card Test" com "percentagem de reagentes a 1/50" e com "densidade bovina" (correlação múltipla de "g" com "c" e com "i")	25
5. CONCLUSÕES	34
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

ÍNDICE DAS TABELAS

	<u>Página</u>
TABELA I - Valores para o cálculo do tamanho da amostra por Estado. 1975	11
TABELA II - Número de fêmeas sangradas e propriedades com entrevista por Estados do Brasil. 1975	12

ÍNDICE DOS GRÁFICOS

	<u>Página</u>
GRÁFICO 1 - Relação: % de positivos ao Card Test e % de reagentes a 1/50	27
GRÁFICO 2 - Relação: reagentes a 1/100 + 1/200 com reagentes a 1/50 positivos ao Card Test.. Estados completos	28
GRÁFICO 3 - Relação: % de reagentes a 1/50 positivos ao Card Test e % de reagentes a 1/100, positivos ao Card Test	29
GRÁFICO 4 - Relação: reagentes a 1/100 positivos ao Card Test e reagentes a 1/100. Estados completos	30
GRÁFICO 5 - Relação: % de reagentes a 1/50 e % de reagentes a 1/100	31

Página

GRÁFICO 6 - Relação: % de reagentes a 1/100 + 1/200 + % reagentes a 1/50, positivos ao Card Test com % reagentes a 1/100 + 1/200	32
GRÁFICO 7 - Relação: % de reagentes a 1/200 + reagentes a 1/100 ou 1/50, po sitivos ao Card Test com % de reagentes a 1/100 ou a 1/200	33

1. INTRODUÇÃO

Na atualidade é geralmente aceito que todo critério encaminhado a fazer um diagnóstico, seja individual ou coletivo, deve tomar em consideração características gerais da comunidade, do rebanho, como são, por exemplo, a densidade bovina e, especialmente, o estado sanitário da comunidade do rebanho. Se parte da premissa de que o verdadeiro estado sanitário de um indivíduo ou de um grupo está, de alguma maneira, relacionado - ainda mais - depende do estado sanitário dos grupos que o rodeiam, depende do estado sanitário e de outras características gerais de sua comunidade.

Insistentemente se fala que é muito importante que os programas de erradicação se baseiem no critério de diagnóstico de rebanho.

Esta relação entre o estado sanitário de um grupo e o estado sanitário (e outras características gerais) da comunidade à qual pertence, implica variada gama de consequências verificáveis. Mas sobre esta importante relação há pouca investigação sistemática.

Por exemplo, frente à brucelose bovina, dada uma prova diagnóstica sorológica que opera com diferentes níveis de antígenos - como a soroaglutinação rápida em placa

(SAR) -, se existe aquela relação, então pode-se esperar, entre outras conseqüências verificáveis, que nos lugares onde há uma maior proporção de reagentes para determinado nível de antígeno, tenderá a haver uma maior (ou menor) proporção de reagentes para outro nível de antígeno. Ou, dada uma combinação de duas provas diagnósticas, se existe aquela relação, cabe esperar, também, que nos lugares onde há uma maior proporção de reagentes para determinado nível de antígeno, tenderá a haver uma maior (ou menor) proporção de reagentes para outro nível de antígeno. Ou, como último exemplo, se existe dita relação, pode-se esperar que nos lugares onde há uma maior densidade bovina tenderá a haver uma maior (ou menor) proporção de reagentes para determinado nível de antígeno de alguma prova diagnóstica sorológica.

É bem sabido que nos resultados de qualquer prova sorológica intervêm inumeráveis fatores. Alguns destes fatores são conhecidos, uns embora conhecidos, são de difícil ou impossível controle, muitos outros são desconhecidos. Este desconhecimento obedece, em grande parte, a que na dinâmica das imunoglobulinas subsiste multidão de pontos escuros.

Isto significa que nenhum teste sorológico, considerado isoladamente, é capaz de descobrir todas as classes de imunoglobulinas e que na aplicação de qualquer prova sorológica multiplicam-se as possibilidades de erro de todo tipo, especialmente do erro de medição.

Nestas condições, tanto para julgar a eficiência duma prova sorológica (sensibilidade, especificidade, precisão etc.), como para lograr resultados mais fidedignos, impõe-se cada dia, com mais força, o tratamento ou enfoque coletivo ou estatístico deste problema, assim como a combinação das provas. Isto pelo conhecido fato de que erros obedecem, na sua distribuição, às leis probabilísticas.

A brucelose é uma das doenças que conta com grande número de métodos para detecção do seu microrganismo específico, a *Brucella*.

No Brasil, a prova sorológica utilizada rotineiramente, no diagnóstico de brucelose bovina, é a prova de aglutinação rápida em placa (SAR). Esta prova, apesar de ser bastante vulnerável frente a vários agentes ou causas, como as climáticas, a manipulação, a temperatura; apesar de apresentar relativamente baixa sensibilidade e especificidade e, apesar de apresentar, com frequência, numerosos casos de reações suspeitas, oferece as vantagens de rapidez e simplicidade; o fato de se receber menor influência da presença de "anticorpos bloqueadores" e por fenômeno de zona; sua capacidade para captar as IgM (e possivelmente as IgG₂) e, especialmente, quando realizada cuidadosamente, dá resultados comparáveis aos da aglutinação em tubo (SAT).

Todas estas características fazem desta prova um útil recurso quando é aplicada cuidadosamente e em grandes grupos de animais; assim, os erros tendem a compensar-se em virtude das leis probabilísticas.

Outra prova sorológica utilizada, em menor escala, no diagnóstico da brucelose bovina, é a prova do "antígeno tamponado" ou o "Card Test", que possui uma alta sensibilidade. Em áreas com taxas de infecção alta ou em rebanhos infectados, há grande possibilidade de correspondência entre os resultados positivos da prova e a infecção. Isto se apóia no fato, geralmente aceito, de que o desaparecimento das IgG (que seriam as globulinas detectadas pelo Card Test) significa um estado não infeccioso. Após a infecção experimental ou após a vacinação por *Brucella*, o Card Test fornece, em geral, uma resposta mais precoce e mais durável que a SAT (soroaglutinação em tubo) e ainda que a fixação do complemento (FC). Uma característica interessante deste teste é que ele fornece, exclusivamente, resultados positivos ou negativos: não dá "suspeitos". Mas

o Card Test parece ter uma relativamente baixa especificidade e um baixo poder para discriminar entre títulos sorológicos residuais de vacinação e títulos resultantes de infecção. Também é frágil, frente a variações da temperatura e na manipulação. O Card Test, como prova complementar, ou alternativa, tem sido proposta - e aplicada com bom êxito - em vários países. Parece ser uma útil prova de tamis ou de triagem, quando se tratar de grande número de animais.

Estas duas provas (SAR e Card Test) apesar de suas limitações, têm sido consagradas pelo uso em programas e campanhas de erradicação bem sucedidas em diferentes partes do mundo.

Várias investigações, quer transversais quer longitudinais, têm mostrado que quando usada em combinação com outras provas, num mesmo grupo de animais, o Card Test apresenta uma satisfatória concordância com várias delas, por exemplo: com a SAR e, especialmente, com uma prova tão sensível como a FC, que tem atingido níveis de sensibilidade de 97% (LEVIEUX, 1974).

Há suficientes antecedentes para aceitar que o Card Test, utilizado como prova complementar ou de triagem, em combinação com outra prova como a SAR, pode proporcionar resultados de uma razoável exatidão (particularmente, se utilizada em forma coletiva, em grandes e numerosos grupos de animais) e contribuir para aumentar a precisão do diagnóstico a nível coletivo. Já se tem dito que uma das principais limitações ou problemas da SAR é a proporção de suspeitas que proporciona. Neste trabalho aplicou-se uma combinação destas duas provas em um grande número de animais. Em todos aqueles soros que resultaram suspeitos para a SAR (nível antigênico $\frac{1}{50}$) e em todos os soros reagentes ao nível de $\frac{1}{100}$, foi aplicado o Card Test. Justamente a percentagem de suspeitos positivos ao Card Test e a percentagem de reagentes a $\frac{1}{100}$ positivos ao Card Test são

algumas das principais variáveis no estudo das consequências verificáveis antes exemplificadas.

Certamente, trabalhando com variáveis como estas, isto é, variáveis muito complexas, variáveis multicausais, nas quais grande parte do sistema causal fica incontrolado ou desconhecido - não se pode pretender achar, sempre, relações fortes e integrais como no domínio da física. Porém, o descobrimento, a verificação objetiva de alguma das relações citadas pode ser pelo menos sugestiva no sentido de estimular a pesquisa nesta área metodológica ou com esta orientação metodológica. Mais ainda, se é possível conhecer o tipo de tal relação e lhe dar uma expressão quantitativa, dependendo de sua intensidade, se abre a possibilidade para um procedimento de cálculo que pode servir como mais um elemento de juízo para avaliar ou aperfeiçoar uma taxa de prevalência e para reforçar o mencionado critério de diagnóstico coletivo. Em outras palavras, se, por exemplo, a percentagem de suspeitos positivos ao Card Test (combinação de provas) está quantitativa e significativamente relacionada com alguma das outras variáveis estudadas (densidade bovina, percentagem de reagentes a outro nível etc.), aquela percentagem de suspeitos positivos ao Card Test poderá expressar-se como uma função. Compreende-se que se a variável dependente é, por exemplo, a citada percentagem de suspeitos positivos, isto permitiria estimar o resultado de uma combinação de provas a partir de alguma outra variável ou poderia contribuir para a avaliação da correspondente taxa de prevalência. Este trabalho, utilizando o enfoque estatístico, assim como a combinação de provas sorológicas, estuda tais relações.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Numerosos trabalhos têm estudado o efeito da temperatura sobre os resultados da SAR, entre estes:

QUINTARD et alii (1967) mostram a vulnerabilidade desta prova diante um amplo espectro de temperatura dando ênfase a sua eficiência quando aplicada a uma temperatura adequada.

MANTHEI (1967) afirma que a SAR tem sido efetiva para diagnosticar brucelose, sob uma grande variedade de condições. Mas a efetividade desta prova depende da habilidade para produzir e manter antígenos com uma estável sensibilidade, para interpretar corretamente a reação de aglutinação. Saliencia o fato de que várias instituições públicas e privadas dos Estados Unidos têm adotado o Card Test como prova diagnóstica oficial e que para se obter resultados confiáveis e comparáveis com esta prova é necessário aplicar com exatidão os procedimentos recomendados.

Trabalhando com 5823 soros BRINLEY MORGAN et alii (1969) acharam que existe uma estreita concordância entre os resultados do Card Test e os da FC. Mas uma relativamente baixa especificidade desta prova é comentada por estes autores.

Num trabalho experimental PILET et alii (1972)

também encontraram concordância entre os resultados do Card Test e os resultados da FC. Acharam que o Card Test fornece, em geral, uma resposta mais precoce e mais durável que a SAT e ainda que a FC após infecção experimental ou vacinação.

Segundo LEVIEUX (1974) a comparação de diferentes provas sorológicas mostra que nenhuma prova considerada isoladamente pode detectar todas as classes de imunoglobulinas; não sendo conhecida a cinética da evolução das imunoglobulinas específicas é necessário recorrer às análises estatísticas para investigar a atividade comparada dos diferentes testes sorológicos.

CASAS (1974) coincide com LEVIEUX (1974) na afirmação de que nenhuma prova sorológica por si só pode descobrir a totalidade dos casos de brucelose, mas ressalta o fato de que o desaparecimento das IgG (as globulinas detectadas pelo Card Test) significa um estado não infeccioso. Também ressalta a capacidade da SAR para captar as IgM e, possivelmente, as IgG₂. Este mesmo autor refere-se ao baixo poder do Card Test para discriminar entre títulos sorológicos residuais da vacinação e títulos sorológicos decorrentes da infecção.

ALTON et alii (1975) além de reconhecerem que o Card Test tem sido aceito com entusiasmo em alguns países, seja como prova definitiva, seja como prova "triagem", advertem que esta prova proporciona a mais alta taxa de reações positivas em bovinos em que não tem sido possível o isolamento bacteriológico de *Brucella abortus*.

No Canadá, examinando 28.714 soros bovinos, PRIOR et alii (1975) concluíram que o Card Test mostra satisfatória concordância com a FC e parece ser uma prova "triagem", útil em operações envolvendo grande número de animais.

ALTON et alii (1976) consideram que a prova de aglutinação do soro tem sido o principal método sorológico,

empregado até agora e continua a ser o mais útil relativamente à brucelose humana e bovina. Para estes autores, o Card Test é mais eficiente quando usado como prova de detecção em grande escala.

Para ROUX (1979) é necessário frisar o interesse crescente pela prova Card Test, que se apresenta como a prova mais adaptada aos inquéritos de massa.

No presente, não existem meios sorológicos completamente satisfatórios para detecção de brucelose bovina, afirma SUTHERLAND (1980). Contudo, a introdução recente de provas complementares, como o Card Test, em vários países, parece estar contribuindo para aumentar a confiabilidade nos resultados.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho utiliza os dados obtidos no Diagnóstico de Saúde Animal (1977) que o Ministério de Agricultura (MA-PRONASA) realizou em 17 Estados da Federação (U.F.) e um Território, a partir de 1975: Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo*, Goiás, Mato Grosso, Distrito Federal, Bahia, Alagoas, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Ceará, Piauí, Maranhão e Território de Roraima.

A informação correspondente a 68.344 soros de fêmeas bovinas constitui a base do presente trabalho.

3.1. Método de amostragem

Utilizou-se o procedimento de amostragem estratificado proporcional.

Estratificação - as diferentes U.F. foram divididas em estratos geográficos, tratando de uniformizar as populações

* Foram excluídos os soros do Estado do Espírito Santo devido a problemas neles

bovinas de cada um deles. Nos Estados de Santa Catarina , Paraná e São Paulo, usaram-se divisões programáticas denominadas áreas. Para os demais Estados, foram usadas as micro-regiões homogêneas (MRH). Desta maneira, os estratos constituíram-se de uma ou mais das divisões mencionadas (áreas ou MRH), as quais, a sua vez, compreendem um número variável de municípios, de acordo com as características de cada região. Desta maneira, as 18 U.F. ficaram divididas em 144 estratos geográficos.

Tamanho das amostras, grau de confiança e nível de precisão - para determinar o número de animais (soros) a selecionar, em cada Estado, utilizaram-se os procedimentos e fórmulas estatísticos de rotina. O grau de confiança foi sempre de 95% - ($\alpha = 0,05$). Deve salientar-se, com respeito à precisão, que o erro (d) em nenhum caso foi maior que 3% (TAB. I). A fim de expandir a amostra e por razões práticas, tomou-se em cada propriedade com pecuária, um número constante de animais. O tamanho de amostra para cada Estado oscilou de 960 no Território de Roraima até 13.600 no Estado de Minas Gerais e, para cada estrato, de 36 até 2237 (TAB. II).

TABELA 1 - Valores para o cálculo do tamanho da amostra por Estado. 1975.

Estados	Prevalência esperada (%)	Valor de p	Valor de $q = 1-p$	Margem de erro (d)	Nível de significação = 0,05
Santa Catarina	3	0,03	0,97	0,0054	1,96
Paraná	10	0,10	0,90	0,01	1,96
São Paulo	20	0,20	0,80	0,01	1,96
Minas Gerais	15	0,15	0,85	0,007	1,96
Rio de Janeiro	10	0,10	0,90	0,01	1,96
Espírito Santo	10	0,10	0,90	0,01	1,96
Goiás	12	0,12	0,88	0,01	1,96
Mato Grosso	8	0,08	0,92	0,01	1,96
Distrito Federal	4	0,04	0,96	0,01	1,96
Bahia	10	0,10	0,90	0,01	1,96
Alagoas	10	0,10	0,90	0,013	1,96
Pernambuco	7	0,07	0,93	0,01	1,96
Paraíba	10	0,10	0,90	0,015	1,96
Rio Grande do Norte	5	0,05	0,95	0,01	1,96
Ceará	10	0,10	0,90	0,01	1,96
Piauí	10	0,10	0,90	0,01	1,96
Maranhão	6	0,06	0,94	0,01	1,96
Território de Roraima	20	0,20	0,80	0,0258	1,96

Fonte: MA-PRONASA (1977)

TABELA II - Número de fêmeas sangradas e propriedades com entrevista por Estados do Brasil. 1975

Estado	Tamanho da amostra (n)	Nº de fêmeas por propriedade (b)	Nº de propriedades com entrevista (r)
Santa Catarina	4000	2	2000
Paraná	7500	3	2500
São Paulo	6400	4	1600
Minas Gerais	13600	4	3400
Rio de Janeiro	5000	5	1000
Espírito Santo	3600	3	1200
Goiás	6000	4	1500
Mato Grosso	4200	5	840
Distrito Federal	1860	4	465
Bahia	4200	3	1400
Alagoas	2100	3	700
Pernambuco	3000	3	1000
Paraíba	1800	3	600
Rio Grande do Norte	2400	3	800
Ceará	3600	3	1200
Piauí	3600	4	900
Maranhão	2700	3	900
Território de Roraima	960	6	160
TOTAL	76.520		22.165

Fonte: MA-PRONASA (1977)

* Após depurações ficaram 68.344 soros

Distribuição e seleção de propriedades - o número de animais e propriedades foi distribuído nos diferentes estratos, de acordo com o critério de proporcionalidade da população bovina. Assim, o número de propriedades de cada estrato foi proporcional à população bovina do estrato. Para seleção das propriedades usou-se um procedimento sistemático, selecionando propriedades de todos os municípios, de acordo com a população bovina existente em cada um deles. A seleção dos animais em cada propriedade realizou-se por uma amostragem sistemática.

3.2. Organização técnico-administrativa

Sob a direção central do PRONASA (Programa Nacional de Saúde Animal) foram destacados, em cada Estado, supervisores (fiscais, inspetores) com o objetivo de assessorar as equipes centrais de cada Estado. Criaram-se diferentes equipes de campo, com a supervisão de um médico veterinário para ligar o nível operativo ao nível central de cada Estado. A cada equipe de campo (médico veterinário, auxiliar, motorista) atribuiu-se um número de propriedades .

Preparação de pessoal

- a) De campo - foram instruídos por meio de sucessivas reuniões, com os respectivos manuais de operação;
- b) De laboratório - todos os médicos veterinários de laboratório foram treinados em técnicas de diagnóstico, com o objetivo de unificar o critério de leitura das provas a serem usadas;

Técnica de laboratório

Por tratar-se de grande quantidade de soros a serem examinados, foram usadas as provas de soro-aglutina-

ção rápida em placa e a prova de antígeno tamponado, Card Test. O antígeno para a prova rápida foi padronizado nos laboratórios do Ministério da Agricultura e o Card Test foi fornecido pela "Becto-Dickinson and Company" (New Jersey, USA), Esta última prova usou-se como uma forma de discriminar os soros com resultados suspeitos encontrados na prova de soro-aglutinação em placa.

O Comitê FAO/OMS de Especialistas em Brucelose, recomenda não se conceda valor diagnóstico aos títulos inferiores a 100 UI/ml para animais não vacinados ou em estado de vacinação desconhecido; os títulos de 50 e 100 UI/ml considerar-se-ão como "suspeitos", respectivamente, em animais não vacinados e oficialmente vacinados. Neste trabalho, em muitos casos, não se tinha conhecimento sobre o estado vacinal prévio dos animais.

Foram tratados com Card Test todos os soros que reagiram nas diluições de 1/50 e 1/100 na SAR. Os soros foram tratados num laboratório central em cada Estado a fim de minimizar as variações de leitura.

3.3. Variáveis estudadas em cada estrato ou cada Estado

a) Percentagem de reagentes a 1/50 (SAR), positivos ao Card Test*.

b) Percentagem de reagentes a 1/100(SAR), positivos ao Card Test*.

c) Percentagem de reagentes a 1/50 (SAR)**.

d) Percentagem de reagentes a 1/100 (SAR)**.

* Em relação ao número de reagentes.

** Em relação ao total de soros no estrato ou no Estado.

- e) Percentagem de reagentes a $1/200$ (SAR).
- f) Percentagem de reagentes a $\frac{1}{100}$ (SAR) + reagentes a $\frac{1}{200}$ (SAR).
- g) Percentagem de:
 reagentes a $\frac{1}{100}$ (SAR) + reagentes a $\frac{1}{200}$ (SAR)
 + reagentes a $\frac{1}{50}$, positivos ao Card Test.
- h) Percentagem de:
 reagentes a $\frac{1}{200}$ (SAR) + reagentes a $\frac{1}{200}$ ou
 $\frac{1}{50}$, positivos ao Card Test.
- i) Densidade bovina (em número de cabeças por Ha).

3.4. Métodos estatísticos de análise

Correlações (simples e múltiplas).

Determinações (simples e múltiplas).

Regressões (simples e múltiplas).

Limites de confiança.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Relações entre "percentagem de reagentes a 1/50, positivos ao Card Test" e outras variáveis

Obviamente conhecer a percentagem de positivos entre os suspeitos (isto é, entre os reagentes a $\frac{1}{50}$) permite um cálculo mais preciso da taxa de prevalência. Por isso, interessa particularmente estudar as relações da variável "percentagem de reagentes a 1/50, positivos ao Card Test" com outras variáveis.

4.1.1. Com "percentagem de reagentes a 1/50" (variável c)

Não apresenta relação com esta variável, nem sequer nos Estados tal como se adverte pela ampla dispersão dos pontos no respectivo diagrama (GRAF. 1). O valor de r calculado não é significativo.

4.1.2. Com "percentagem de reagentes a 1/100" (variável d)

Apresenta uma real, porém, débil associação com

$$r = 0,39 \quad (p \leq 0,01)$$

4.1.4.1. Mas nos Estados é relativamente alta :

$$r = 0,73 \quad (p \leq 0,01).$$

4.1.4.2. Até o ponto que se julgou conveniente calcular a equação de regressão respectiva:

$$Y = 8,82 + 2,68X$$

4.1.4.3. Onde a variável dependente é a percentagem de suspeitos positivos ao Card Test. A representação gráfica da equação, a linha de regressão, assim como o diagrama de dispersão figuram no GRAF. 2. Interpretando a equação pode-se dizer que, com certas flutuações, para cada aumento estadual de 1% na percentagem de reagentes a 1/100 ou 1/200, cabe esperar um aumento de 2,68% na percentagem de suspeitos positivos ao Card Test. Fatores locais estariam interferindo nesta correlação nos estratos.

4.1.5. Com "percentagem de reagentes a 1/100, positivos ao Card Test" (variável b)

O diagrama de dispersão correspondente a estas variáveis (GRAF. 3) sugere a existência de associação entre ambas, calculado o coeficiente de correlação, este confirmou tal hipótese:

$$r = 0,62 \quad (p \leq 0,01)$$

4.1.5.1. Este grau de associação até permite calcular uma equação de certa utilidade:

$$Y = 1,19 + 0,44X$$

4.1.5.2. Que permite calcular a percentagem de suspeitos positivos ao Card Test, em função da percentagem

de reagentes a 1/100, positivos ao Card Test.

No diagrama observam-se, nitidamente, alguns pontos discordantes. Justamente estes pontos correspondem a percentagem de suspeitos positivos ao Card Test, calculados sobre bases pequenas (15 a 20 indivíduos) de maneira que estes valores podem considerar-se, em boa medida, resultados de artifícios de cálculo e, finalmente, eliminarse. Ao fazê-lo, fica um conjunto de pontos que, além de sugerir uma mais estreita relação, insinua uma associação curva. O cálculo do correspondente coeficiente de correlação curvo confirma tais impressões

$$r = 0,82 \quad (p \leq 0,01)$$

4.1.5.3. Esta relativamente alta correlação justifica o cálculo do correspondente polinômio de segundo grau:

$$Y = 16,75 - 0,44X + 0,009X^2$$

4.1.5.4. Cujas representação é a curva do diagrama. Esta questão possibilita um cálculo da percentagem de suspeitos positivos ao Card Test, em função da percentagem de reagentes a 1/100, positivos ao Card Test, mais preciso do que com a anterior equação. Esta linha de regressão curva tem um desvio padrão.

$$S_e = 9,32$$

4.1.5.5. Isto é, aproximadamente 2/3 dos pontos ficam dentro do intervalo $\pm 9,32\%$ com respeito à linha.

4.1.6. Com as outras variáveis

Não se acharam correlações simples significativas nem com a variável "g" nem com a variável "h" e nem com a variável "i".

4.1.7. Com "percentagem de reagentes a 1/50" e com "percentagem de reagentes a 1/100 ou 1/200" (correlação múltipla)

A percentagem de suspeitos positivos ao Card Test está simultaneamente correlacionada com estas duas variáveis. O correspondente coeficiente de correlação múltipla assim o confirma:

$$r_{1.23} = 0,48 \quad (p _ 0,01)$$

4.1.7.1. Onde: 1 representa a percentagem de suspeitos positivos ao Card Test (variável dependente).

2 representa a percentagem de reagentes a 1/50 e

3 representa a percentagem de reagentes a 1/100 ou 1/200.

A correspondente equação de regressão múltipla é:

$$X_1 = 19,11 - 1,34X_2 + 2,9X_3$$

4.1.7.2. Esta equação não permite um cálculo muito exato da variável dependente.

Porém, é interessante observar um fato, freqüente, quando a correlação múltipla é calculada: apesar de a variável "a" não estar correlacionada com a variável "c" e de estar debilmente correlacionada com "f", parece estar mais fortemente correlacionada com "c" e "f", simultaneamente. Isto sugere que, na medida em que se controle um maior número de variáveis relacionadas, é possível lograr correlações e funções mais perfeitas.

4.2. Relação entre "percentagem de reagentes, a 1/100, positivos ao Card Test" e "percentagem de reagentes a 1/100" (relação entre "b" e "d")

Somente nos Estados foi possível achar uma cor-

relação significativa e relativamente alta, entre estas duas variáveis.

$$r = 0,66 \quad (p \leq 0,05)$$

4.2.1. A equação correspondente é:

$$Y = 25,95 + 8,63X$$

4.2.2. Na qual a variável dependente (Y) é "percentagem de reagentes a 1/100, positivos ao Card Test". O diagrama de dispersão e a linha de regressão figuram no GRAF. 4. Pode-se esperar, em termos globais, que para cada aumento estadual de 1% na "percentagem de reagentes a 1/100", ocorra um aumento de 8,63 na "percentagem de reagentes a 1/100, positivos ao Card Test".

4.3. Relação entre "percentagem de reagentes a 1/50" e "percentagem de reagentes a 1/100" (relação entre "c" e "d")

Estas duas variáveis oferecem uma correlação relativamente alta nos estratos:

$$r = 0,69 \quad (p \leq 0,01)$$

4.3.1. Considerando "c" como variável dependente:

$$Y = 3,84 + 1,48X$$

4.3.2. Esta equação está representada junto com o seu diagrama de dispersão no GRAF. 5. A partir de 3,84% a variável "c" tenderá a aumentar em 1,48% para cada aumento de 1% da variável "d".

4.4. Relação "percentagem de reagentes a 1 / 100 ou 1/200 + suspeitos, positivos ao Card Test" com "percentagem de reagentes a 1/100 ou 1/200" (relação entre "g" e "f")

O diagrama de dispersão correspondente revela uma forte relação entre estas duas variáveis (GRAF. 6) que permite formular uma hipótese de associação entre elas. Para submeter a prova essa hipótese, calculou-se o coeficiente de correlação:

$$r = 0,96 \quad (p \leq 0,01)$$

4.4.1. Ainda que nesta correlação uma das variáveis seja parte da outra, não se trata de uma correlação espúria, desde que "a" e "f" estão relacionadas (ver resultado 4.1.4.1.). É interessante, então, estimar o valor populacional desta forte correlação, que está definido pelos limites de confiança de ρ :

$$0,94 \leq \rho \leq 0,97$$

4.4.2. Por outro lado, deve-se frisar que o coeficiente de determinação:

$$r^2 = 0,92$$

4.4.3. Mostra que a variação experimentada pela "percentagem de reagentes a 1/100 + suspeitos positivos ao Card Test" é explicada em 92% pela correspondente variação da "percentagem de reagentes a 1/100 ou 1/200".

Esta estreita correlação impõe o cálculo da respectiva equação de regressão:

$$Y = 0,37 + 1,30 X$$

4.4.4. Esta equação é interessante de um ponto de vista prático, pois, contando somente com os resultados

da SAR, isto é, com a percentagem de reagentes a 1/100 ou 1/200, permite calcular a percentagem que se teria, havendo aplicado ambas as provas (isto é, a percentagem de reagentes a 1/100 ou 1/200 + suspeitos positivos ao Card Test). Assim possibilitaria um cálculo mais preciso de taxa de prevalência para um estrato dado.

Esta linha de regressão, representada no GRAF.6 tem o seguinte desvio padrão:

$$S_e = 1,31$$

4.4.5. Aproximadamente 2/3 dos pontos não se afastam da linha em mais de 1,31%.

O valor populacional do coeficiente de regressão tem um valor não menor que 1,24 nem maior que 1,36:

$$1,24 \leq \beta \leq 1,36$$

4.4.6. O incremento na linha de regressão é real: é diferente de zero.

4.5. Relação entre "percentagem de reagentes a 1/200 + reagentes a 1/100 ou 1/50, positivos ao Card Test" com "percentagem de reagentes a 1/100 ou 1/200" (relação entre "h" e "f")

Neste caso, também o diagrama de dispersão (GRAF. 7) mostra uma considerável relação entre estas duas variáveis. O coeficiente de correlação impõe a rejeição da hipótese nula:

$$r = 0,86 \quad (p \leq 0,01)$$

4.5.1. O valor populacional desta estreita correlação oscila entre:

$$0,81 \leq \rho \leq 0,90$$

4.5.2. 74% da variação em "h" é explicada pela variação correspondente em "f", tal como expressa o coeficiente de determinação:

$$r^2 = 0,74$$

4.5.3. A equação de regressão respectiva é:

$$Y = 0,37 + 0,99X$$

4.5.4. Onde a variável dependente (Y) é "percentagem de reagentes a 1/200 + reagentes a 1/100 ou 1/50, positivos ao Card Test". Esta equação também é interessante, pois a partir dos resultados da SAR só, permitiria calcular a percentagem de reagentes a 1/200 + reagentes a 1/100 ou 1/50 positivos ao Card Test.

O desvio padrão desta linha de regressão é:

$$S_e = 2,08$$

4.5.5. Isto é, 2/3 dos pontos não se afastam da linha em mais de 2,08%.

O coeficiente de regressão populacional tem um valor no intervalo:

$$0,89 \leq \beta \leq 1,09$$

Quer dizer que neste caso também o incremento da linha de regressão é diferente de zero.

4.6. Relação entre "percentagem de reagentes a 1/100 + reagentes a 1/200" com "percentagem de reagentes a 1/50" e com "densidade bovina" (correlação múltipla de "f" com "c" e com "i")

Enquanto as correlações simples de "f" com "c"

e de "f" com "i" são mais dêbeis, existe uma, nada desprezível associação simultânea entre estas três variáveis, tal como mostra o coeficiente de correlação múltipla:

$$r_{1.23} = 0,69 \quad (p_{\underline{.}} < 0,01)$$

- 4.6.1. Onde: 1 representa a variável dependente "f";
 2 representa a variável independente "c";
 3 representa a variável independente "i".

A equação de regressão múltipla:

$$X_1 = -1,19 + 0,41 X_2 + 4,29 X_3$$

- 4.6.2. Tem o seguinte desvio padrão:

$$S_e = 2,377.$$

Isto é, as estimativas feitas por meio desta equação podem ser de alguma utilidade, tendo em consideração a complexidade das variáveis em jogo.

- 4.7. Relação entre "percentagem de reagentes a 1/100 + reagentes a 1/200 + reagentes a 1/50, positivos ao Card Test" com "percentagem de reagentes a 1/50" e com "densidade bovina" (correlação múltipla de "g" com "c" e com "i")

Também neste caso, enquanto as correlações simples de "g" com "c" e de "g" com "i" são mais dêbeis, a variável "g" está simultaneamente correlacionada com as variáveis "c" e "i", e esta correlação é bastante estreita (dada a natureza das variáveis):

$$r_{1.23} = 0,73 \quad (p_{\underline{.}} < 0,01)$$

- 4.7.1. Onde: 1 representa a variável dependente "g";
 2 representa a variável "c";
 3 representa a variável "i".

A correspondente equação de regressão múltipla:

$$X_1 = -1,68 + 0,634 X_2 + 5,37 X_3$$

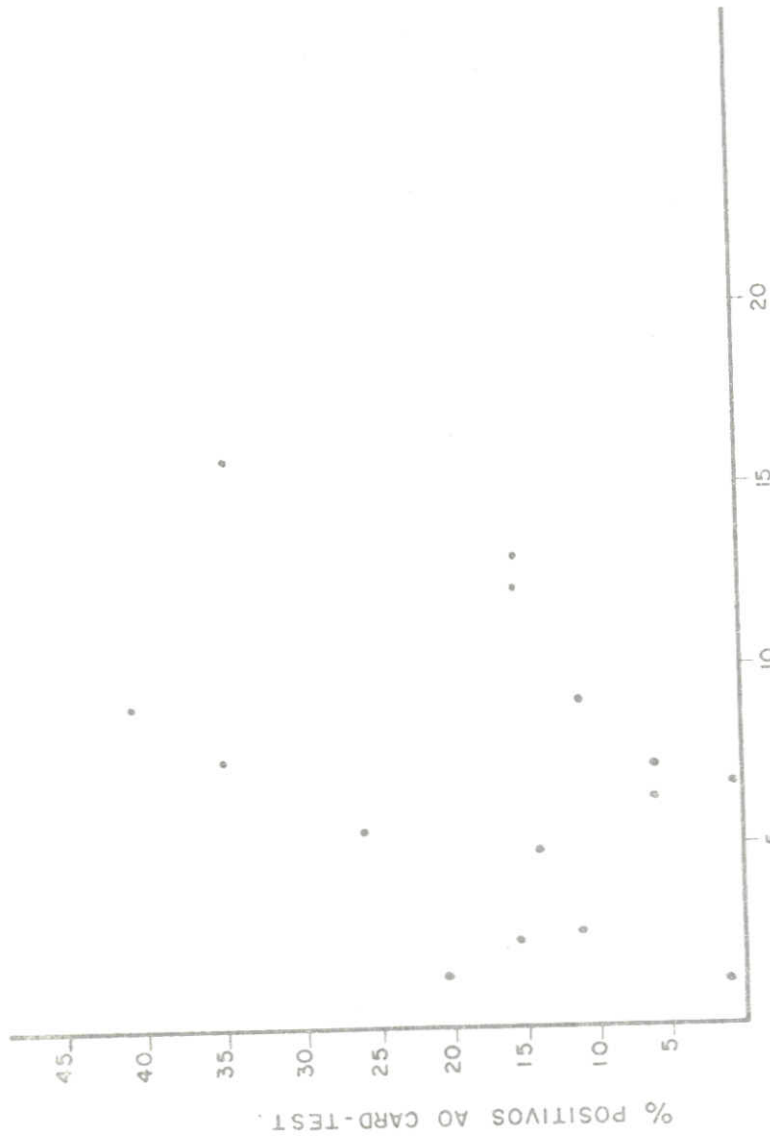
Permitiria estimações até mais confiáveis que a equação 4.6.2. O seu desvio padrão é:

$$S_e = 3,12$$

Isto é, a variável "g" poderia ser estimada em forma aproximada, contando só com as variáveis "c" e "i".

Considerando:

- 1) As circunstâncias que rodeiam estas provas multitudinárias, os inumeráveis fatores que podem concorrer para alterar os seus resultados, apesar das precauções adotadas.
- 2) O fato de existir várias correlações significativas, tanto simples como múltiplas, e,
- 3) O fato de advertir-se a concordância entre o "Card Test" e a SAR, cabe pensar que a ausência de correlação em alguns casos ou a ampla dispersão noutros, podem dever-se, em certa medida, tanto a erros na aplicação da amostragem a campo, como a erros de medição, isto é, a falta de uniformidade na aplicação das provas sorológicas em uns casos ou a sua aplicação viciada em alguns ou a falhas na interpretação dos resultados noutros ou à conhecida falta de precisão dos próprios métodos de diagnóstico sorológico. Isto significa que uma aplicação mais rigorosa destas provas, ao diminuir os erros de medição, possibilitaria o achado de relações ou de relações mais nítidas.



% DE REAGENTES AO 1/50, PROVA RÁPIDA

GRÁFICO 1 - Relação entre % positivos ao Card-test e % reagentes ao 1/50.

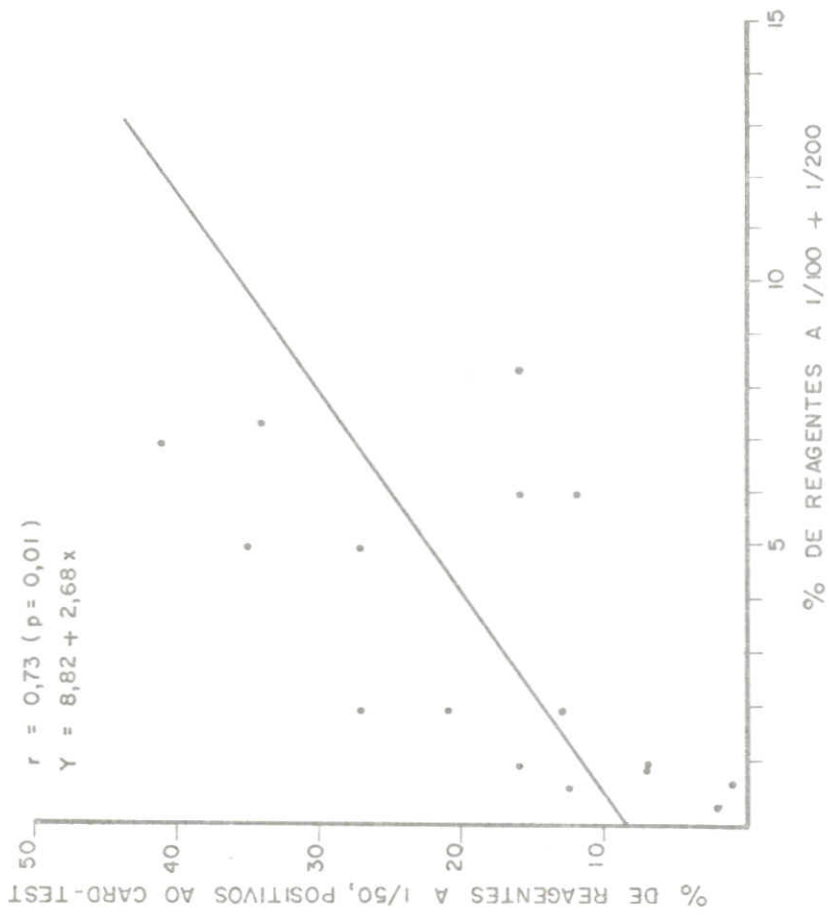


GRÁFICO 2 - Relação: reagentes a 1/100 - 1/200 com reagentes a 1/50 positivos ao Card-test. Estados completos.

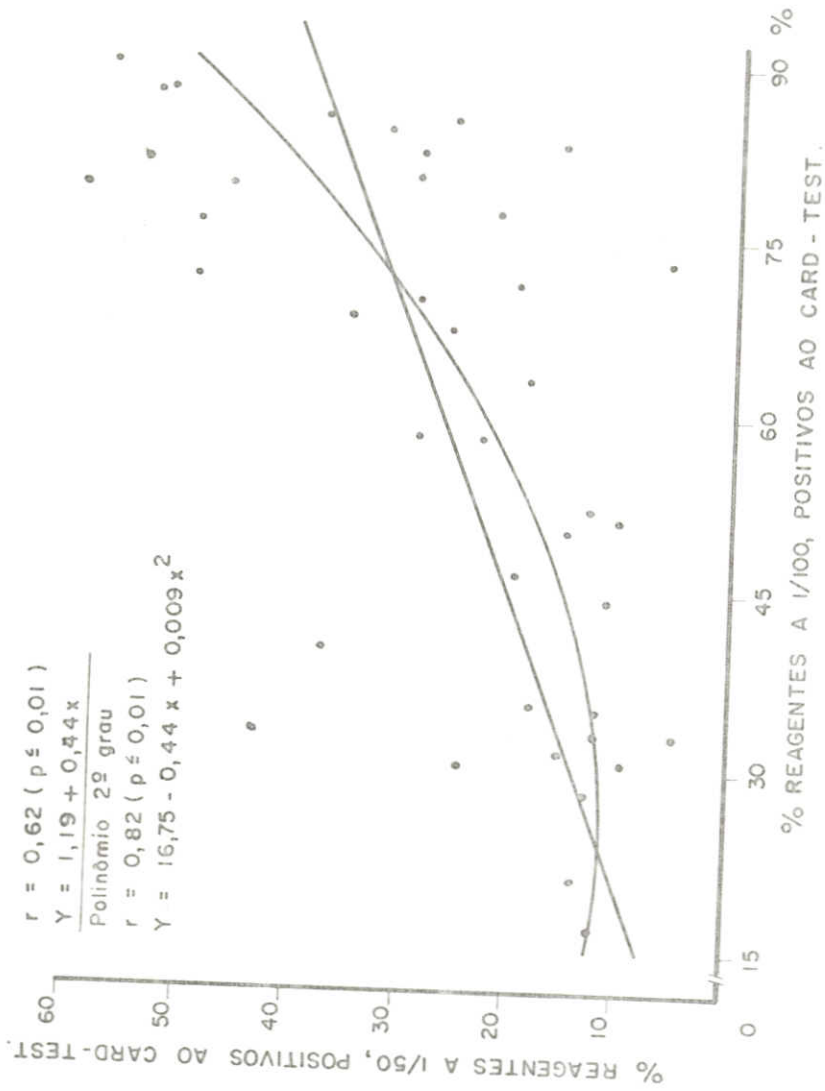


GRÁFICO 3 - Relação: % reagentes a 1/50, positivos ao Card-test e
 % reagentes a 1/100, positivos ao Card-test.

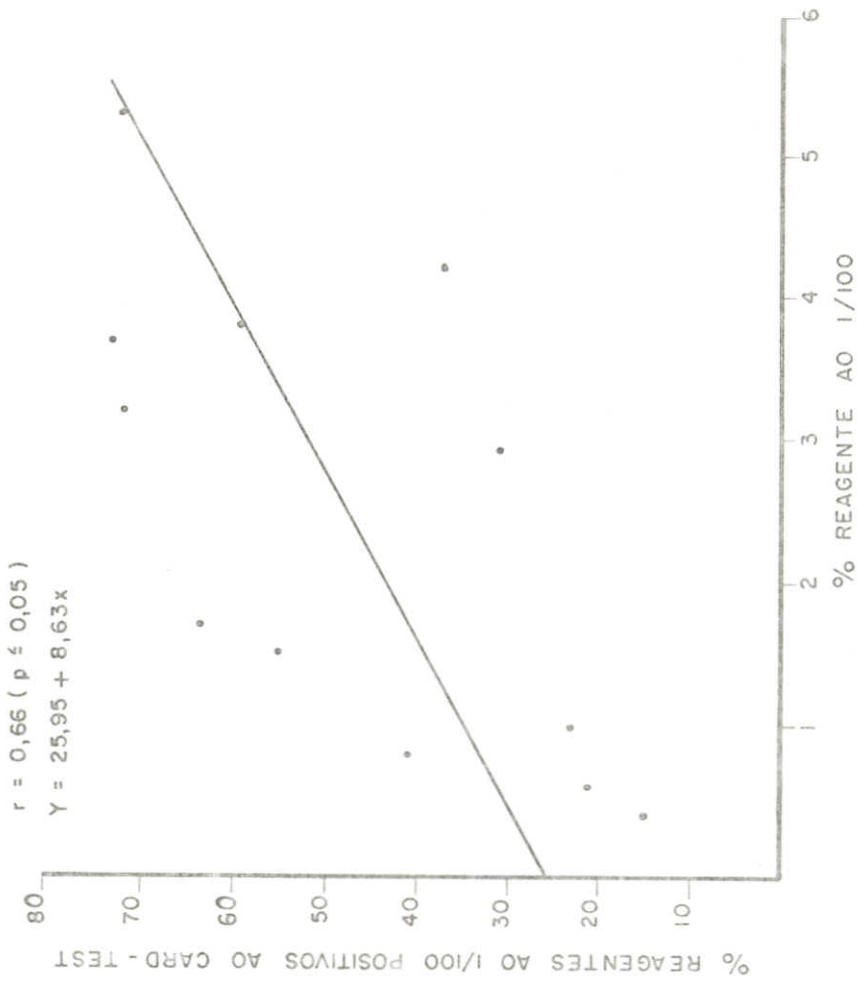


GRÁFICO 4 - Relação: reagentes a 1/100 positivos ao Card-test e reagentes a 1/100. Estados completos.

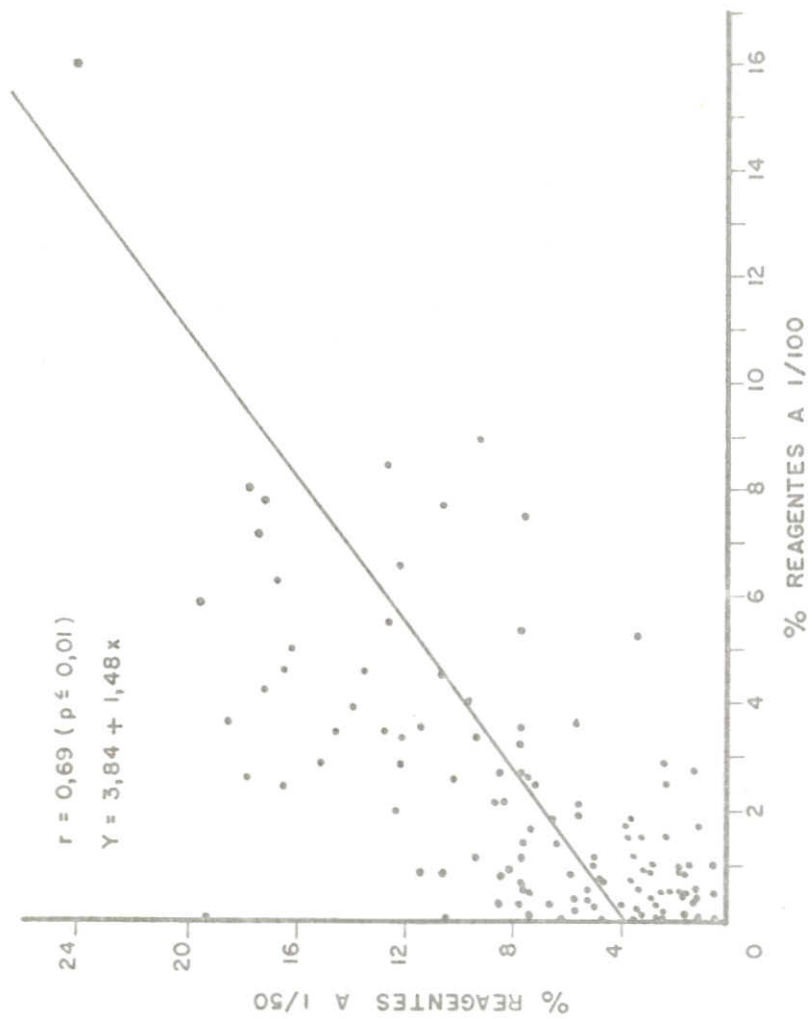


GRÁFICO 5 - Relação entre % de reagentes a 1/50 e % de reagentes a 1/100.

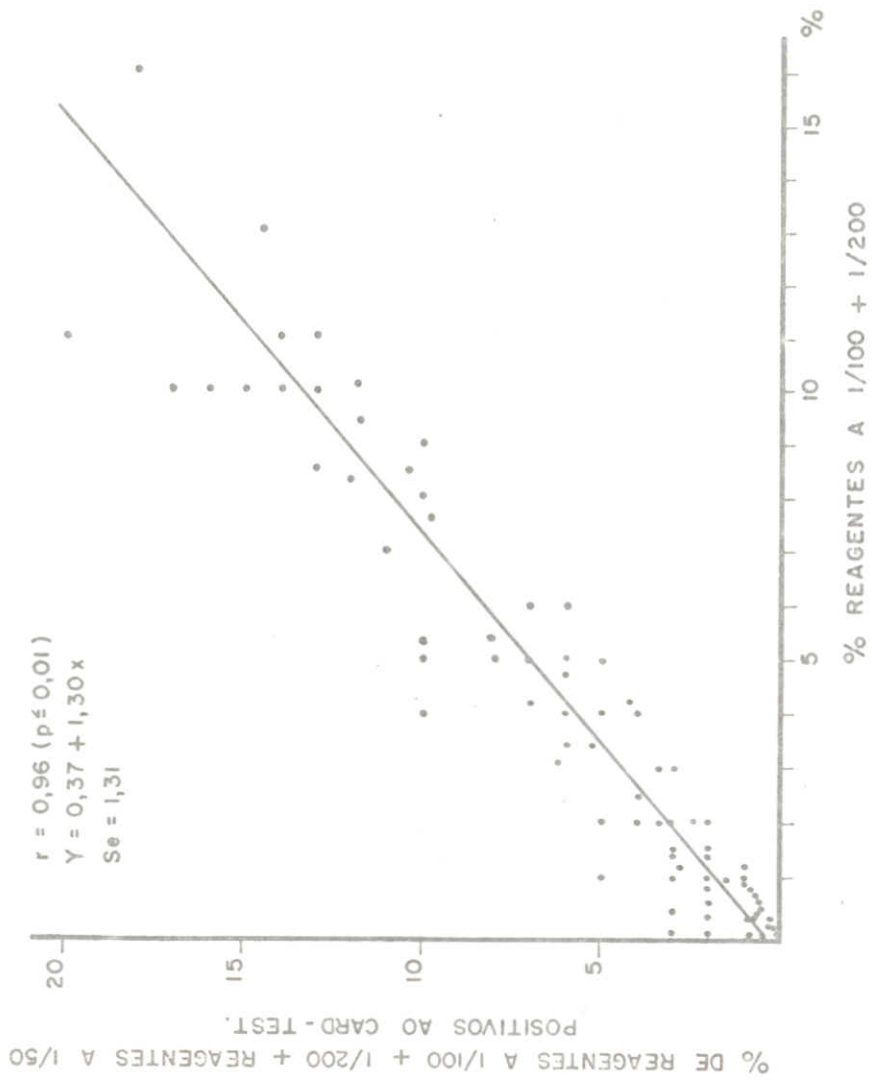


GRÁFICO 6 - Relação: % reagentes a 1/100 + 1/200 + % reagentes a 1/50, positivos ao Card-test com % reagentes a 1/100 + 1/200.

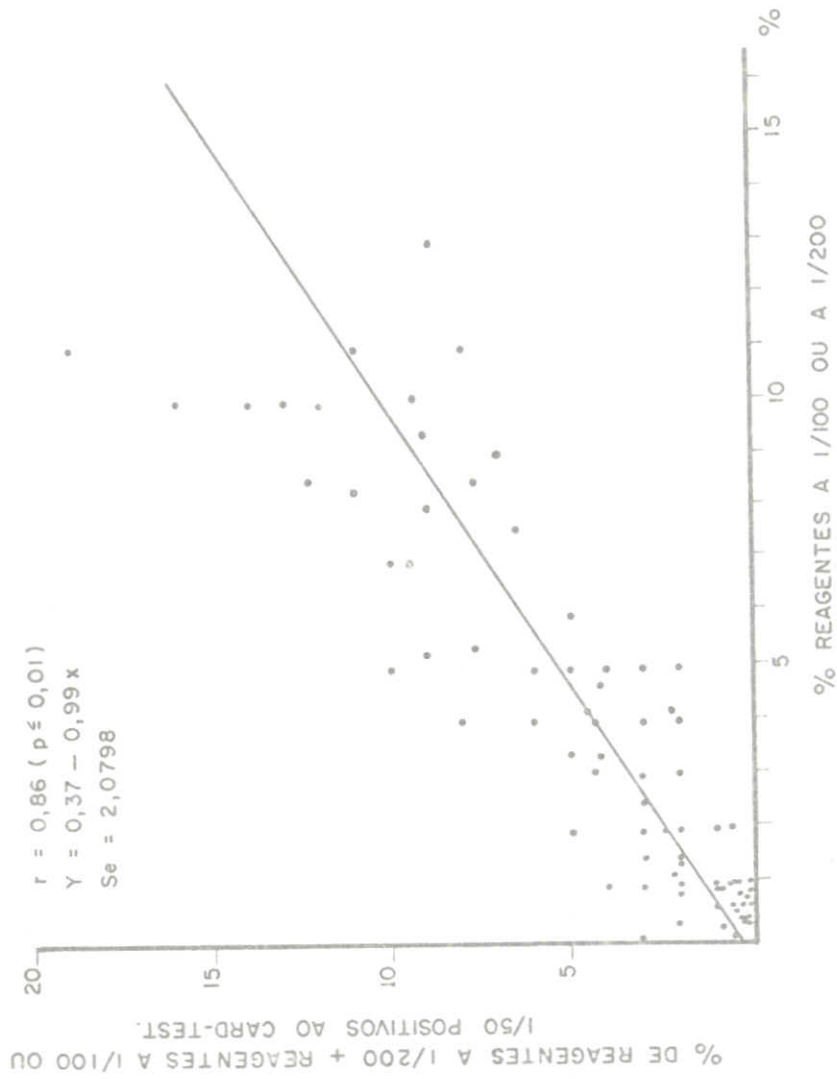


GRAFICO 7 - Relação: % de reagentes a 1/200 - reagentes a 1/100 ou 1/50, positivos ao Card - test com % reagentes a 1/100 ou a 1/200.

5. CONCLUSÕES

Quanto maior o número de variáveis consideradas, quante maior seja o número de fatores controlados na análise de correlação-regressão, mais definidas são as relações encontradas.

Ainda nos casos de correlações simples se acham algumas relações que, dada a natureza das variáveis em jogo, podem considerar-se bastante estreitas. Por exemplo, pode-se afirmar que, naqueles estratos onde há uma maior percentagem de reagentes a 1/100 positivos ao Card Test, há também uma maior percentagem de reagentes a 1/50 positivos ao Card Test.

Contando somente com os resultados da SAR, isto é, com percentagem de reagentes a 1/100 ou 1/200, pode-se estimar, aproximadamente, a percentagem de reagentes a 1/100 ou 1/200 + suspeitos positivos ao Card Test e a percentagem de reagentes a 1/200 + reagentes a 1/100 positivos ao Card Test + reagentes a 1/50 positivos ao Card Test.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALDER, H.L. & ROESLER, E.B. Estatistical procedures. University of California. Davis, USA, 1958.
2. ALTON, G.G.; MAW, J.; ROGERSON, B.A.; McPHERSON, G.G. The serological diagnosis of bovine brucellosis: an evaluation of the complement fixation, serum agglutination and Rose Bengal tests. Aust. Vet. J., New South Wales, 51:57-63, 1975.
3. ALTON, G.G.; JONES, L.M.; PIETZ, D.E. Las técnicas de laboratorio en la brucelosis. Monografía. OMS, Ginebra, Nº 55, 1975.
4. BRINLEY MORGAN, W.J.; MACKINNON, D.J.; LAWSON, J.R.; CULLEN, G.A. The Rose Bengal Plate Agglutination Test in the diagnosis of brucellosis. Vet. Rec., London, 85:636-41, 1969.
5. CASAS, R. Diagnóstico serológico de la brucelosis animal. CEPANZO, Buenos Aires, 1974.
6. LEVIEUX, D. Immunoglobulines bovines et brucellose. Ann. Rech. Vétér., Paris, 5(3):343-53, 1974.
7. MANTHEI, C.A. Application of research to bovine brucellosis control and eradication programs. J. Dairy Sci., Illinois, 51(7):114-20, 1967.

8. PILET, Ch.; TOMA, B.; ANDRÉ, G. Diagnostic sérologique de la brucellose par l'épreuve à l'antigène tamponné ou Card Test. Cah. Méd. Vét., Paris, 41:5-19, 1972.
9. PLANO NACIONAL DE COMBATE À FEBRE AFTOSA. Diagnóstico de Saúde Animal. Ministério da Agricultura, Brasília, 1977.
10. PRIOR, M.G.; NILLO, L.; REEKER, W.H. Use of the brucellosis Card Test for screening cattle in Saskatchewan. Can. J. Comp. Med., Ottawa, 39(2):107-9, 1975.
11. QUINTARD, S.; RIVAS, M.; LOYOLA, R. Efecto de la temperatura en la reacción de Huddleson. Zooiatria, Santiago, 8:1-4, 1967.
12. ROUX, J. Epidémiologie et prévention de la brucellose. Bull. OMS, Genève, 57(2):179-94, 1979.
13. SNEDECOR, G.W.; COCHRAN, W. Métodos estadísticos. CECSA, México, 1975.
14. SOKAL, R.; ROHLF, F.J. Biometry. W.H. Freeman, San Francisco, 1969.
15. SPIEGEL, M.R. Estadística. Série Schaum. McGraw Hill, Panamá, 1969.
16. SUTHERLAND, S.S. Immunology of bovine brucellosis. Vet. Bull., Surrey, 50(5):359-68, 1980.