

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

FUNDAÇÃO DE ESTUDO E PESQUISA
EM MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA

ERROS DE CLASSIFICAÇÃO NA DISCRIMINAÇÃO SOROLÓGICA DO ESTA-
DO IMUNITÁRIO CONTRA A FEBRE AFTOSA EM BOVINOS

Vicente Mateo Astudillo

Belo Horizonte
Minas Gerais
1980

Vicente Mateo Astudillo

ERROS DE CLASSIFICAÇÃO NA DISCRIMINAÇÃO SOROLÓGICA DO ESTADO IMUNITÁRIO CONTRA A FEBRE AFTOSA EM BOVINOS

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

Área: Epidemiologia

Belo Horizonte
Minas Gerais
1980

Astudillo, Vicente M., 1937-
A859e Erros de classificação na discriminação sorológica do estado imunitário contra febre aftosa em bovinos. Belo Horizonte, Escola de Veterinária da UFMG, 1980.

36p. ilust.

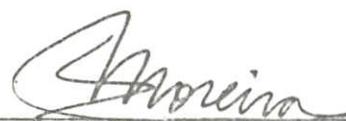
Bibliografia

Tese, Mestre em Medicina Veterinária

1. Doença animal - Aftosa - Bovino. 2. Aftosa - Testes sorológicos. 3 - Aftosa - Imunidade. I. Título.

CDD - 636.089 692 6

Aprovada em 11/11/1980



Prof. ÉLVIO CARLOS MOREIRA
- Orientador -



Prof. JOSÉ OSWALDO COSTA



Prof. FÉLIX J. ROSENBERG

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. ÉLVIO CARLOS MOREIRA, por seu apoio tão significativo.

Aos Drs. PEDRO ACHA, RAÚL CASAS, ROBERTO GOIĆ, FÉLIX ROSENBERG, HENÁN MÁLAGA e EDUARDO CENTENO, pelo valioso incentivo e contribuição.

À Sra. FRANCISCA GIORDANO FERNÁNDES e ao Sr. ANTONIO J. MENDES DA SILVA, pela importante cooperação e apoio que prestaram.

A meus companheiros de trabalho na Unidade Estatística e Computação do Centro Panamericano de Febre Aftosa.

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

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

RESUMO

O nível de anticorpos é usado para classificar dicotomicamente o estado imunitário do gado frente à febre aftosa. Ao relacionar o título de anticorpos (avaliado pelos testes de soroproteção em camundongos lactantes, soroneutralização em tubos e em microplacas), com a resposta clínica decorrente da exposição ao vírus da febre aftosa, resultam animais verdadeiramente protegidos e não protegidos, assim como falsos protegidos e falsos não protegidos. Estas duas últimas categorias constituem erros de classificação, cujo número depende do valor de nível de anticorpos específico eleito para fazer a triagem. Propõe-se uma metodologia para selecionar o valor ótimo de anticorpos, entre todos os possíveis, de forma tal que seria minimizada a quantidade de erros de classificação. A metodologia é estendida para situações onde os falsos protegidos são considerados mais prejudiciais que os falsos não protegidos. Explica-se o teorema de Bayes para avaliar o desempenho dos testes sorológicos na triagem do estado imunitário do gado, considerando a sensibilidade, a especificidade, a capacidade de predição de proteção e de não proteção como probabilidades condicionais. Ao desenvolver as taxas de falsos protegidos e falsos não protegidos, em função da taxa esperada da imunidade na população bovina, ocorre variação

nas taxas de erros de classificação. Se a imunidade anti-aftosa esperada é alta na população, então a taxa de falsos protegidos é baixa e a de falsos não protegidos é alta e vice-versa. Ao conhecer-se os níveis de erros de classificação, é possível fazer um controle estatístico delas e assim chegar a estimar a taxa verdadeira de protegidos frente à febre aftosa, a partir de anticorpos.

SUMÁRIO

	<u>Página</u>
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
3. MATERIAL E MÉTODOS	7
4. RESULTADOS	13
5. DISCUSSÃO	24
6. CONCLUSÕES	32
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

1. INTRODUÇÃO

A imunização dos bovinos é uma das principais ferramentas dos programas de controle da febre aftosa. O conhecimento sobre o que se poderia esperar em relação ao estado imunológico do gado, provém dos resultados dos testes de controle de qualidade das vacinas. Estes ensaios se restringem às respostas clínicas ou sorológicas em um número muito pequeno de indivíduos. Estudos imunológicos populacionais baseados em amostras de bovinos são impraticáveis, quando os animais são expostos ao vírus da febre aftosa e são muito caros para se obter o título de anticorpos (ED₅₀) de cada soro bovino.

Estas objeções representam um entrave na avaliação do estado imunológico da população, que pode ser resolvido através de um mecanismo de triagem que proporcione métodos mais rápidos, práticos e econômicos para se conhecer o estado imunitário. O propósito básico deste enfoque é de poder esperar, de uma grande população bovina, aqueles animais que têm uma alta probabilidade de serem imunes à febre aftosa.

Existem diversas provas sorológicas para medir os anticorpos, proporcionando um indicador imunológico quantitativo contínuo. Neste estudo se faz uma aplicação do en-

foque de triagem na dicotomização dos bovinos em relação ao seu estado imunitário contra a febre aftosa baseado em seu nível de anticorpos.

Os níveis de anticorpos são usados para classificar o gado. Assim, o teste imunológico empregado em pesquisas por amonstragens deve servir como um primeiro recurso de classificação, com o propósito de dividir a população bovina em dois grupos: um que deve ser considerado protegido e o outro para o qual a prova não apresenta suficiente evidência de estar protegido contra febre aftosa.

O erro de classificação é um problema que sempre afeta esta classe de estudo, que ocorre quando um indivíduo é classificado numa categoria errada, neste caso protegido ou não protegido, classificação esta baseada no nível de anticorpos. Admite-se que o nível de anticorpos contra a febre aftosa deve ser menor no grupo não protegido do que no grupo protegido. Para classificar-se indivíduos se observa se eles caem acima ou abaixo de um ponto crítico da escala quantitativa do nível de anticorpos, elegendando-se um valor discriminante, de tal forma que seja minimizada a quantidade total de erros de classificação.

Os termos falsos protegidos ou falsos não protegidos são usados neste trabalho para definir o verdadeiro não protegido, classificado pelo teste como protegido, e o verdadeiro protegido, classificado pelo teste como não protegido.

A finalidade deste trabalho é avaliar cuidadosamente o impacto dos erros de classificação na triagem sorológica do estado imunitário dos bovinos frente à febre aftosa em duas categorias: protegidos e não protegidos. "Classificação", "discriminação", "distribuição" ou "dicotomização", são nomes diferentes para um mesmo problema estatístico: dada a um bovino a possibilidade de pertencer a qualquer das duas populações que representam o estado imunitário, decidir a qual pertence. Propõe-se uma metodologia para otimizar este tipo de decisões.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Dado o caráter metodológico deste trabalho, a revisão bibliográfica é orientada, principalmente, para caracterizar os efeitos dos erros de classificação na estimação de parâmetros de importância epidemiológica. Vários autores têm estudado algumas consequências estatísticas dos erros de classificação, especialmente quando os dados são apresentados em tabelas 2 x 2. Neste caso, as duas variáveis são classificadas como binárias.

Um trabalho clássico de erros de classificação foi apresentado por BROSS (1954), que encontrou os seguintes resultados:

- a) "os erros de classificação podem apresentar mais sérios problemas no caso de estimativas do que no caso de provas de significância";
- b) "quando o mesmo sistema de classificação é usado em duas populações os erros de classificação não afetarão a validade da prova de significância";
- c) "existe um preço que deve ser pago, o erro de classificação tende a reduzir o poder da prova".

DIAMOND & LILIENTHAL (1962) estudaram os efeitos dos erros de classificação sobre as estimações do ris-

co relativo para estudos de caso-controle e concluíram, sob certas circunstâncias, que isto pode produzir sobre-estimação do risco relativo. Essas conclusões provêm de uma pesquisa médica, onde o método falível é uma entrevista contra a situação verdadeira dada pelo diagnóstico clínico. NEWELL (1962) contestou o método dos autores DIAMOND & LILIENFELD (1962) ao usar dados derivados de um estudo em outro; porém, sua crítica não afeta o principal argumento de DIAMOND & LILIENFELD de que os erros de classificação possam produzir associações espúrias. Na opinião do autor deste trabalho, devem ser aplicados a estudos epidemiológicos, procedimentos cuja validade seja conhecida; de outra forma, qualquer interpretação deve ser muito cautelosa.

KEYS & KIHLEBERG (1963) reafirmaram o conceito de que os erros de classificação produzem uma subestimação do efeito verdadeiro, somente quando ditos erros são igualmente prováveis nos dois grupos.

TENENBEIN (1971) propôs um esquema de amostragem em três etapas para determinar o tamanho da subamostra e da amostra completa, fazendo uma amostragem piloto de "m" unidades para obter as classificações verdadeiras e falsas de cada uma das unidades e assim poder estimar os parâmetros desconhecidos. Neste procedimento, o incremento da variância de dados binomiais é insignificante; conseqüentemente, este método é útil no controle dos erros de classificação. GOMES & ASTUDILLO (1975) estudaram a validade do índice de soroproteção em camundongos lactantes em relação à imunidade antiaftosa do gado, introduzindo a sensibilidade e a especificidade como medidas padronizadas para avaliar um teste sorológico, usado como procedimento para classificar a imunidade dos bovinos.

GOLDBERG (1975) mostrou que o risco relativo aproximado é mais afetado pela taxa de falsos positivos (função de especificidade) que pela taxa de falsos negativos. GAIL & GREEN (1976) mostram o estatístico "min L" que se

pode utilizar quando medições quantitativas contínuas são aplicadas para classificar indivíduos examinados, sob suposto de que ocorrem erros E_1 (falso negativo) e E_2 (falso positivo), donde $L = E_1 + E_2$. Os autores determinaram a distribuição do "min L". Este estatístico é uma generalização do teste de um extremo para duas amostras de Kolmogorov-Smirnov.

COPELAND et alii (1977) mostram que o afastamento da estimação do risco relativo desde seu valor verdadeiro é uma função da sensibilidade e da especificidade, da frequência da doença como da frequência da exposição ao fator. Quando os erros de classificação são iguais nos dois grupos comparados, a estimação tende na direção do valor nulo. Quando diferentes erros de classificação ocorrem, a tendência pode ser numa ou noutra direção, podendo ser maior.

LAWRENCE & GREENWALD (1977) propuseram um procedimento de triagem em duas etapas baseado em estudos de cohortes, usando registros de morbidade para determinação da frequência de uma enfermidade em "cohortes" de indivíduos expostos e não expostos, na primeira etapa. Na segunda, os casos positivos segundo o registro são seguidos. A efetividade deste procedimento resulta favorável em relação a um estudo com completo seguimento, diminuindo o custo e o tempo do mesmo.

ASTUDILLO (1978) examinou os problemas que se apresentam na estimação da taxa verdadeira de imunidade anti-ftosa avaliada a partir de um método indireto, caracterizando a capacidade de predição do índice de soroproteção em camundongo lactante.

GLADEN & ROGAN (1979) examinaram algumas propriedades dos testes de triagem para a estimação da prevalência de doenças e mostraram que a frequência de positivos é uma má estimação, sendo necessário fazer um ajustamento para os erros de classificação.

QUADI et alii (1980) mostraram que os erros de

classificação, associados à imperfeição de um método de diagnóstico, podem afetar a indução estatística em epidemiologia. Este trabalho indica até que ponto o erro padrão de uma taxa pode ser aumentado e chegar a viciar a estimação da taxa, devido à presença de erros de classificação.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Bovinos

Os dados relativos aos níveis de anticorpos e a resposta clínica à exposição ao vírus foram obtidos de 1201 bovinos de 18-24 meses de idade, mestiços, incluídos nos registros de provas imunológicas do Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (CPFA), PAFMDC/PAHO/WHO (1979), GOMES & ASTUDILLO (1975), SUTMOLLER & VIEIRA (no prelo). Estes bovinos foram selecionados para o estudo pela ausência de anticorpos antes da vacinação e posteriormente vacinados com vacinas inativadas com adjuvante hidróxido de alumínio ABREU (1971) ou adjuvante oleoso AUGÉ DE MELLO et alii (1975).

Proteção do gado

Os bovinos foram inoculados por via intradermo lingual (IDL) com 10^4 ID₅₀ de vírus de febre aftosa homólogo, 21-28 dias após a vacinação (DAV), sendo considerados protegidos quando não apresentam lesões nas patas.

Soros

Colheitas de sangue dos bovinos primovacinados

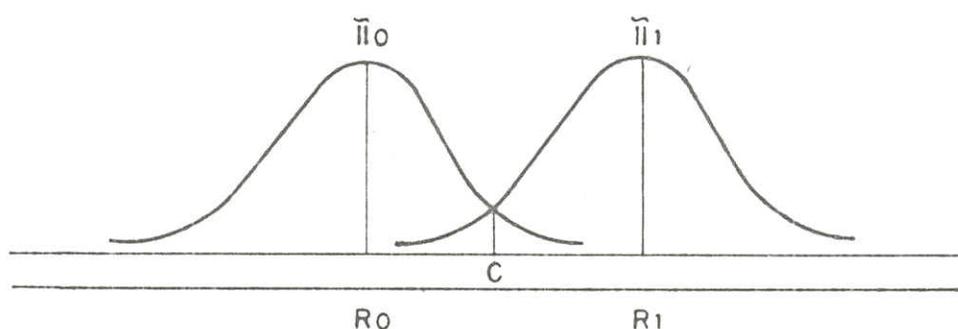
foram feitas antes da exposição ao vírus e mantidas a -20°C até serem avaliados os níveis de anticorpos.

Determinação quantitativa de anticorpos

Os testes sorológicos foram todos feitos no CPFA, com o uso de três tipos de testes: neutralização de vírus em tubo (SNV), CENTRO PANAMERICANDO DE FIEBRE AFTOSA (1974); teste de microneutralização (MNT), FERREIRA (1976) e índice de soro-proteção em camundongo (MPI), CUNHA et alii (1957). Cada teste foi aplicado a uma amostra diferente de soros de bovinos vacinados.

Distribuição de frequências sobrepostas

Cada bovino é uma observação eleita de uma das duas populações: não protegida (π_0) e protegida (π_1). Não é possível, na prática de campo, identificar diretamente a qual dessas categorias pertence um bovino. A classificação de um bovino depende da escala de medida dos anticorpos, relativa a cada um dos três testes sorológicos. Assim, elaboram-se duas distribuições de probabilidades, a partir dos registros de níveis de anticorpos em bovinos



Se assume um modelo probabilístico normal, como indica a Figura acima.

Escolha do valor de anticorpos ótimo para triagem

Assume-se, em geral, que o nível de anticorpos numa população π_0 é inferior ao correspondente numa população π_1 . Divide-se o eixo quantitativo em duas regiões R_0 e R_1 , escolhendo um valor crítico (C) para discriminar o estado imunitário antiaftosa dos bovinos:

$$R_0 : \{X_i < C\}$$

$$R_1 : \{X_i > C\}.$$

De acordo com LEWIS (1966):

$$C(X) = (\sigma_0\mu_1 + \sigma_1\mu_0) / (\sigma_1 + \sigma_0)$$

onde μ_0 e μ_1 são as médias aritméticas das populações π_0 e π_1 respectivamente. σ_0 e σ_1 são desvios padrões nas populações π_0 e π_1 respectivamente. Neste estudo estimam-se aqueles parâmetros a partir das amostras de bovinos.

Para a classificação individual aplica-se a seguinte regra:

- 1) se a observação cai na região R_0 classifica-se como vinda da população não protegida (π_0), e
- 2) se a observação cai na região R_1 classifica-se como vinda da população protegida (π_1).

Então, de acordo com ANDERSON (1958), a probabilidade da classificação correta de um bovino que provém da população π_0 é:

$$P(0/0) = \int_{-\infty}^C P_0(X) dx$$

e a probabilidade de erro de classificação de um bovino que provém de π_0 é:

$$P(1/0) = \int_C^{\infty} P_0(X) dx$$

De igual modo, a probabilidade de classificação correta de um bovino que provém da população π_1 é:

$$P(1/1) = \int_C^{\infty} P_1(X) dx$$

e a probabilidade de cometer erro na classificação do mencionado bovino é:

$$P(0/1) = \int_{-\infty}^C P_1(X) dx$$

Pode-se cometer duas espécies de erros de classificação: se o bovino provém realmente de π_0 pode ser classificado como de π_1 , este erro é chamado de falso protegido $F(1)$: se o bovino é realmente de π_1 pode-se classificá-lo como de π_0 , este erro é chamado de falso não protegido $F(0)$.

Os relativos prejuízos (W) destes dois tipos de erros de classificação são: $W_{F(1)}$ para o primeiro tipo de erro de classificação (falso protegido), e $W_{F(0)}$, para os falsos não protegidos.

Essas ponderações são expressadas neste trabalho como uma razão entre elas. Por exemplo:

- (i) $W_{F(1)}: W_{F(0)} = 1:1$, quando os falsos protegidos são considerados tão prejudiciais como os falsos não protegidos.
- (ii) $W_{F(1)}: W_{F(0)} = 2:1$, quando os falsos protegidos são considerados duplamente prejudiciais, em relação aos falsos não protegidos. De acordo com ANDERSON (1958) a seguinte tabela de 2×2 mostra os resultados deste método de classificação.

Classificador falível (anticorpos)	Classificador certo (resposta clínica)	
	Protegido	Não protegido
Protegido	Decisão correta	$F(1)$
Não protegido	$F(0)$	Decisão correta

Considere-se que a probabilidade de que um bovino pertencente a uma população não protegida frente à febre aftosa π_0 seja q_0 e para uma população protegida π_1 seja q_1 , então a probabilidade de eleger um bovino desde π_0 e classificá-lo corretamente é $q_0 P(0/0)$. A probabilidade de eleger um bovino desde π_0 classificá-lo erroneamente é $q_0 P(1/0)$. A probabilidade associada com a correta classificação de um bovino provém de π_1 é $q_1 P(1/1)$ e a probabilidade de erro de classificação é $q_1 P(0/1)$.

Divide-se o eixo R em duas regiões, R_0 e R_1 , tal que o erro esperado seja tão pequeno quanto possível. Deseja-se minimizar a probabilidade de erro de classificação de acordo com ANDERSON (1958):

$$W_F(1) q_0 \int_C^\infty P_0(X) dx + W_F(0) q_1 \int_{-\infty}^C P_1(X) dx$$

Sensibilidade, especificidade e valor de predição imunitária

De acordo com THORNER & REMEIN (1961), uma tabela familiar nos estudos de triagem, adaptada para este caso, é a seguinte:

Predição estado imunitário (testes)	Estado imunitário real		Total
	Protegido	Não protegido	
Protegido	n_{11}	n_{01}	$n_{.1}$
Não protegido	n_{10}	n_{00}	$n_{.0}$
TOTAL	$\hat{n}_{1.}$	$\hat{n}_{0.}$	$n_{..}$

Ela deve ser construída a partir de uma amostra de bovinos vacinados. Observa-se que o estado imunitário real é encontrado nas colunas, onde $(n_{1.})$ corresponde ao gado protegido contra febre aftosa, e $(n_{0.})$ é o gado não protegido. Porém, os bovinos são classificados de acordo com um critério falível de classificação (anticorpos de febre aftosa) representados pelas filas, dando uma aparente dicotomia de $(n_{.1})$ protegidos e $(n_{.0})$ não protegidos. A sensibilidade é $(U = n_{11}/n_{1.})$ a proporção de protegidos corretamente classificados. A especificidade é $(V = n_{00}/n_{0.})$ a proporção de não protegidos corretamente classificados (GOMES & ASTUDILLO, 1975). Adaptando desde VECHIO (1966), a capacidade de predição de proteção é $(G = n_{11}/n_{.1})$ a proporção realmente imune dentro dos classificados como protegidos pelo teste. A capacidade de predição de não proteção é $(H = n_{00}/n_{.0})$ a proporção realmente não imune dentro dos classificados como não protegidos pelo teste.

Taxa de erros associados com o teste de triagem

Os resultados das provas sorológicas podem ser representados por probabilidades condicionais. Por exemplo $(n_{11}/n_{1.})$ é a probabilidade condicional de ser classificado como protegido pelo nível de anticorpos sendo o gado imune contra a febre aftosa. A probabilidade condicional $(n_{00}/n_{0.})$ corresponde a uma classificação como não protegido pelo nível de anticorpos sendo o gado não imune à febre aftosa. Quando a resposta de anticorpos é tomada como indicativa da existência de imunidade contra febre aftosa, então a taxa de falsos protegidos $F(1)$, é a proporção de gado realmente não protegido, que responde sorologicamente como protegido $(n_{01}/n_{.1})$. A taxa de falsos não protegidos, $F(0)$, é a proporção de gado realmente protegido, que responde sorologicamente como não protegido $(n_{10}/n_{.0})$.

Por aplicação do teorema de Bayes seguindo a FLEISS (1973):

$$\begin{aligned}
 F(1) &= (n_{11}/n_{1.}) = \frac{(n_{01}/n_{0.})(n_{0.}/n_{..})}{(n_{.0}/n_{..})} = \\
 &= \frac{(n_{01}/n_{0.}) \{1 - (n_{1.}/n_{..})\}}{(n_{01}/n_{0.}) + (n_{1.}/n_{..}) \{(n_{11}/n_{1.}) - (n_{01}/n_{0.})\}} \\
 F(0) &= (n_{10}/n_{.0}) = \frac{(n_{10}/n_{1.}) (n_{1.}/n_{..})}{(n_{.0}/n_{..})} = \\
 &= \frac{1 - (n_{11}/n_{1.}) (n_{1.}/n_{..})}{\{1 - (n_{01}/n_{0.}) - (n_{1.}/n_{..}) \{(n_{11}/n_{1.}) - (n_{01}/n_{0.})\}\}}
 \end{aligned}$$

4. RESULTADOS

Três amostras diferentes de soros de bovinos primovacinados, cada uma das quais tem tanto protegidos como não protegidos à exposição ao vírus da febre aftosa aos 30 DPV, foram classificados de acordo com o nível de anticorpos avaliados pelo Índice de soroproteção ou MPI (TAB. I), por soroneutralização em tubos ou SNV (TAB. II) e por microneutralização ou MNT (TAB. III). As referidas tabelas mostram que as áreas das distribuições de frequência de ambos grupos de bovinos sobrepõem-se e não é possível discriminar o estado imunitário do gado, cujo valor de anticorpos cai nessa classe de valores. Para as três provas sorológicas, a amostra de bovinos protegidos é maior que a de bovinos não protegidos. As médias aritméticas do nível de anticorpos dos bovinos protegidos são significativamente maiores que as correspondentes aos bovinos não protegidos, nas três provas ($P < 0,0001$).

A forma das distribuições de frequências apresenta graus variáveis de assimetria, mesmo sem considerar o efeito da amplitude dos intervalos de classe em que foram agrupados os dados para sua apresentação. O intervalo de valores de anticorpos, em que ocorre sobreposição das distribuições de frequências do gado protegido e não protegido, é

variável para as três provas. Observa-se, a partir da TAB. I, que o MPI apresenta um amplo intervalo de valores. Existe um número não insignificante de bovinos com valores baixos de MPI que pertencem à distribuição de protegidos, ao mesmo tempo que o extremo direito da distribuição dos não protegidos se prolonga dentro da distribuição dos protegidos. Ambas as distribuições sobrepõem-se entre os valores 0,5 e 3,0 se não é considerado o único bovino não protegido com $3,0 < \text{MPI} < 3,5$. Sendo assim, pode-se dizer que não existe qualquer bovino protegido com $\text{MPI} < 0,5$, assim como não existe nenhum bovino não protegido frente à febre aftosa com $\text{MPI} > 3,0$. A TAB. II mostra uma distribuição de SNV mais simétrica para os bovinos protegidos, sendo que os animais não protegidos têm um intervalo pequeno de valores de SNV. Esta última distribuição é claramente assimétrica, quando se empregam intervalos de classe de SNV cuja amplitude é de 0,5. Sem considerar o único bovino protegido contra a febre aftosa com $\text{SNV} < 0,5$, o intervalo de valores, onde ocorre sobreposição das distribuições de frequências de ambos grupos está entre 0,5 e 1,5. Da mesma maneira que para a primeira prova pode-se dizer que não existem bovinos protegidos com $\text{SNV} < 0,5$, ao mesmo tempo que não existem bovinos não protegidos frente a febre aftosa com $\text{SNV} > 1,5$.

A TAB. III apresenta as duas distribuições de frequência de MNT, com tendência à simetria, porém com uma grande parte da área de suas distribuições sendo comum. Tal como se observa, o intervalo onde tal sobreposição ocorre está entre 1,0 e 3,0. Os bovinos protegidos frente à febre aftosa não apresentaram $\text{MNT} < 1,0$, sendo que não se observam bovinos não protegidos com $\text{MNT} > 3,0$.

A TAB. IV apresenta os valores ótimos do nível de anticorpos correspondentes a cada uma das três provas sorológicas e as três amostras de soros, para a toma de decisão acerca da classificação do estado imunitário do gado,

de maneira que esta se faça reduzindo o número de erros na classificação, falsos protegidos $F(1)$ e falsos não protegidos $F(0)$, a uma quantia mínima. Quando da decisão de classificar um bovino no grupo protegidos ou no grupo não protegidos é feita sob a condição de que ambos os tipos de erros são igualmente perigosos, $F(1) : F(0) = 1:1$, então os valores ótimos de classificação encontrados são $MPI = 1,8$, $SNV = 1,0$ e $MNT = 2,0$, respectivamente, para os três testes e as três amostras de soros. Com estes valores, o grau de erro de classificação do estado imunitário frente à febre aftosa é para MNT de 36%, para MPI de 11% e para SNV de 9%. Os erros destes dois últimos testes são marcadamente menores e semelhantes. Quando a decisão refere-se à seleção de um valor ótimo para classificar o estado imunitário, considerando duplamente mais perigoso o falso protegido, $F(1) : F(0) = 2:1$, então os valores ótimos de classificação são $MPI = 2,0$, $SNV = 1,2$ e $MNT = 2,4$ sendo que as probabilidades de erro de um e outro tipo agora são desiguais. Como se vê na TAB. IV, produz-se um claro descenso da probabilidade de falsos protegidos $F(1)$ para os três testes sorológicos pela ponderação dada a este tipo de erro. O aumento que experimenta a probabilidade de falsos não protegidos, $F(0)$, não é tão marcado. A relação de ordem entre as três provas e as três amostras de soros, enquanto a probabilidade de incorrer em um erro do tipo falsos não protegidos, $F(0)$, também é a mesma que para $F(1)$.

A TAB. V mostra os indicadores de validez e de capacidade de predição do estado imunitário das três provas sorológicas e as três amostras de soros. A sensibilidade alcança um nível acima de 85%, sendo bastante parecido nas três provas; o mesmo não ocorre com a especificidade que está acima de 85% para SNV e MPI , mas é significativamente menor para MNT . No caso dos dois indicadores de validez destas provas, a SNV é a que apresenta os valores mais elevados, 89% de sensibilidade e 91% de especificida-

de, porém, não apresentando diferenças significativas com MPI. Quanto à capacidade de predição e proteção se apresentam níveis muito semelhantes para os três testes, estando em todos os casos a capacidade acima de 90%. É mais baixa a capacidade de predição e não proteção, sendo que somente SNV está sobre 85%, tendo-se observado valores significativamente menores para as provas MPI e MNT, especialmente esta última.

A TAB. VI dá a probabilidade de ambos tipos de erro associada com uma série de valores possíveis para a taxa real do nível imunitário populacional do gado. Excepcionalmente, esta taxa em regiões sob programas de controle da febre aftosa é maior que 95% ou menor que 10%. Se a imunidade populacional real é relativamente alta, o nível de falsos protegidos é baixo, em troca a proporção de falsos não protegidos alcança um nível alto. O contrário ocorre para taxas de imunidade populacional baixas. Tomando-se como base os valores discriminantes ótimos correspondentes à relação $F(1) : F(0) = 1:1$, para qualquer nível imunitário das populações bovinas, das quais as amostras foram obtidas, a proporção de erros de classificação do estado imunitário a partir de valores sorológicos, é maior para MNT seguido por MPI, sendo SNV o teste que comete uma menor proporção de erros de classificação.

TABELA I - Febre aftosa: distribuição de bovinos protegidos e não protegidos segundo índice de soroproteção em camundongos lactentes (MPI)

MPI	Total	Protegidos	Não protegidos
0,0 /— 0,5	49	-	49
0,5 /— 1,0	36	9	27
1,0 /— 1,5	63	23	40
1,5 /— 2,0	57	38	19
2,0 /— 2,5	51	43	8
2,5 /— 3,0	43	39	4
3,0 /— 3,5	33	32	1
3,5 /— 4,0	35	35	-
4,0 /— 4,5	29	29	-
> 4,5	149	149	-
TOTAL	545	397	148
	Média aritmética	3,52	0,91
	Desvio padrão	1,42	0,72

TABELA II - Febre aftosa: distribuição de bovinos protegidos e não protegidos segundo títulos de soro-neutralização em tubos (SNV)

SNV	Total	Protegidos	Não protegidos
0,0 /— 0,5	68	1	67
0,5 /— 1,0	50	16	34
1,0 /— 1,5	39	29	10
1,5 /— 2,0	45	45	-
2,0 /— 2,5	38	38	-
2,5 /— 3,0	17	17	-
$\bar{>}$ 3,0	16	16	-
TOTAL	273	162	111
	Média aritmética	1,95	0,49
	Desvio padrão	0,76	0,33

TABELA III - Febre aftosa: distribuição de bovinos protegidos e não protegidos segundo títulos de neutralização em microplacas (MNT)

MNT	Total	Protegidos	Não protegidos
0,5 /— 1,0	2	-	2
1,0 /— 1,5	28	5	23
1,5 /— 2,0	65	38	27
2,0 /— 2,5	93	71	22
2,5 /— 3,0	128	120	8
3,0 /— 3,5	43	43	-
3,5 /— 4,0	21	21	-
\bar{x} 4,0	3	3	-
TOTAL	383	301	82
	Média aritmética	2,74	1,82
	Desvio padrão	1,68	0,50

TABELA IV - Valores sorológicos de triagem e respectivas probabilidades de erros de classificação quando se minimiza a condição destes erros

Condições de erros	Testes		
	MPI	SNV	MNT
F(1) : F(0) = 1:1	1,8 (0,11)*	1,0 (0,09)	2,0 (0,36)
F(1) : F(0) = 2:1	2,0 (0,07;0,14)**	1,2 (0,02;0,11)	2,4 (0,12;0,42)

* Probabilidade de ambos os tipos de erros de classificação

** Probabilidade de F(1) e F(0), respectivamente

TABELA V - Triagem da imunidade a febre aftosa em bovinos: estimativas de indicadores de validade e capacidade de predição para as três provas segundo o valor ótimo de triagem quando $F(1) : F(0) = 1:1$

Parâmetros estimados*	Testes		
	MPI (1,8)	SNV (1,0)	MNT (2,0)
Sensibilidade	0,86 \pm 0,034	0,89 \pm 0,048	0,86 \pm 0,039
Especificidade	0,86 \pm 0,056	0,91 \pm 0,053	0,63 \pm 0,104
Predição de proteção	0,94 \pm 0,024	0,93 \pm 0,040	0,90 \pm 0,035
Predição de não proteção	0,70 \pm 0,066	0,86 \pm 0,063	0,55 \pm 0,100

* Nível de confiança de 95%

TABELA VI - Triagem da imunidade à febre aftosa em bovinos: probabilidade de erros de classificação associada à taxa imunitária populacional

Taxa de imunidade da população	MPI*		SNV*		MNT*	
	F(1)***	F(0)***	F(1)	F(0)	F(1)	F(0)
0,10	0,5943	0,0178	0,4765	0,0132	0,7947	0,0241
0,20	0,3944	0,0391	0,2880	0,0293	0,6325	0,0526
0,30	0,2753	0,0652	0,1909	0,0493	0,5010	0,0870
0,40	0,1963	0,0979	0,1317	0,0746	0,3922	0,1290
0,50	0,1400	0,1400	0,0918	0,1078	0,3008	0,1818
0,60	0,0979	0,1963	0,0632	0,1535	0,2229	0,2500
0,70	0,0652	0,2753	0,0415	0,2200	0,1557	0,3415
0,75	0,0515	0,3281	0,0326	0,2661	0,1254	0,4000
0,80	0,0391	0,3944	0,0247	0,3259	0,0971	0,4706
0,85	0,0279	0,4798	0,0175	0,4065	0,0706	0,5574
0,90	0,0178	0,5943	0,0111	0,5211	0,0456	0,6667
0,95	0,0085	0,7557	0,0053	0,6967	0,0221	0,8085

* Os seguintes valores de triagem: 1,8. 1,0 e 2,0 foram considerados para MPI, SNV e MNT, respectivamente.

** Falsos protegidos

*** Falsos não protegidos

5. DISCUSSÃO

Já foi demonstrado que o nível de anticorpos circulantes contra a febre aftosa, medido através do MPI, está claramente relacionado com a proporção de bovinos protegidos à exposição ao vírus da febre aftosa (GOMES & ASTUDILLO, 1975).

Neste trabalho, tal afirmação é confirmada e também demonstrada a correlação existente entre ambos caracteres quando se utilizam as provas de medição de anticorpos SNV e MNT. As amostras de bovinos protegidos contra a febre aftosa, ao serem desafiados com vírus desta enfermidade, apresentam médias aritméticas de nível de anticorpos circulantes significativamente maiores que as correspondentes às amostras de bovinos não protegidos para as três provas sorológicas. Trata-se de populações bovinas cujo comportamento é diferente não só na manifestação clínica da resposta imunitária (proteção e não proteção) como também na resposta sorológica. A predição de uma variável dicotomizada, como é a imunidade contra a febre aftosa, a partir de uma variável quantitativa contínua, como é o nível de anticorpos circulantes, pode se fazer mas não em forma perfeita, a não ser que as distribuições de frequências não fossem sobrepostas.

Ao utilizar-se um procedimento indireto, como é neste caso o sorológico, a separação dos animais em protegidos e não protegidos é dificultada, pois há uma região de valores onde se torna difícil separar ambas as classes de indivíduos. Esta parte da escala constitui uma região de incerteza. A distribuição de frequências dos anticorpos nos animais não protegidos frente à febre aftosa sobrepõe-se com a distribuição de frequência nos animais protegidos.

O suposto de igualdade entre as médias aritméticas de anticorpos para as populações de protegidos e não protegidos tem sido rejeitado com uma probabilidade de erro menor que 0,0001, o que indica que o nível de anticorpos para classificar o estado imunitário contra a febre aftosa é de grande utilidade prática. A sobreposição de parte das distribuições de frequência dos anticorpos dos bovinos protegidos e não protegidos não chega a afetar significativamente nenhuma das três provas sorológicas para o diagnóstico da situação imunitária. A avaliação do estado imunitário contra a febre aftosa de uma população bovina, em dado momento, pode ser representada por uma taxa de animais imunes frente a esta enfermidade.

Sabe-se que é inviável avaliar diretamente a imunidade em uma população, mesmo quando se queira fazê-lo mediante uma amostra. Assim, torna-se necessária a predição através da medição do nível de anticorpos. Com tal propósito, não é prático determinar o ponto final de cada titulação de anticorpos, já que esse procedimento requer para cada soro um esquema de dose-resposta, que é próprio dos trabalhos experimentais, mas não é compatível com estudos massivos de campo, que tem por finalidade averiguar o estado imunitário da população contra a febre aftosa.

Resulta interessante a utilização que neste trabalho é feita do acervo da informação acumulada, sobre respostas sorológicas e proteção à exposição ao vírus, que o Centro Pan-Americano de Fiebre Aftosa mantém em seu ar-

quivo (PAFMDC/PAHO/WHO, 1979). Graças à utilização destes dados, é possível selecionar um valor discriminante ótimo de anticorpos que permita avaliar o estado imunitário de uma população bovina, diminuindo à mínima expressão a probabilidade de se cometer erros na classificação de indivíduos como protegidos ou não protegidos. CUNHA et alii (1957) indicaram o $MPI = 2,0$ como um valor crítico a partir do qual se podia considerar um bovino como protegido. GOMES & ASTUDILLO (1975), em um trabalho com grande quantidade de observações, confirmam que a partir do $MPI = 2,0$ se pode ter uma boa expectativa de proteção.

Daí que a principal novidade deste trabalho é a metodologia de seleção de um valor discriminante do estado imunitário contra a febre aftosa para cada um dos três testes de medição de anticorpos, sob condições de otimização de maneira que ao diagnosticar o estado imunitário se diminua a quantidade de erros de classificação ao mínimo. A estimação do valor discriminante ótimo $C(X)$ é feita através de:

$$W_F(1) q_0 \int_C^\infty P_0(X) dx + W_F(0) q_1 \int_{-\infty}^C P(X) dx,$$

de acordo com ANDERSON (1958).

Esta expressão matemática apresenta o erro médio esperado, tendo-se em conta um prejuízo semelhante para falsos protegidos e falsos não protegidos. Corresponde à adição dos produtos do nível de periculosidade ou custo de cada erro de classificação multiplicado pela probabilidade de suas ocorrências. É este valor médio que se deseja minimizar, ou seja, quer se dividir o espaço numérico dos valores de cada teste em duas regiões, tal que o erro esperado seja tão pequeno quanto possível.

A probabilidade de ter falsos protegidos e falsos não protegidos contra a febre aftosa varia com o tipo de teste sorológico utilizado e para cada um deles depende do valor discriminante escolhido. Os valores discriminan-

tes ótimos estimados e a probabilidade de erro, de ambos os tipos, associada a cada um destes valores, devem-se julgar não só considerando a diferente efetividade que cada teste sorológico pode ter, também é necessário levar em conta o fato que cada teste foi aplicado a uma amostra diferente de soros. Pode haver alguma influência das vacinas utilizadas assim como dos bovinos. Quando se dá a mesma ponderação ao risco de ter falsos protegidos e falsos não protegidos, a tomada de decisão acerca do valor ótimo na escala quantitativa de cada teste sorológico por uma parte minimiza a probabilidade de ambos os tipos de erro, assim como produz uma maximização da adição da sensibilidade mais a especificidade.

Quando a preocupação na decisão é maior com os falsos protegidos frente à febre aftosa, deve-se dar uma maior ponderação a este na equação que escolhe o valor ótimo. Ao se considerar os falsos protegidos duas vezes mais perigosos que os falsos não protegidos, então o valor discriminante alcança um mais alto nível na escala de cada teste, diminuindo a probabilidade de classificar como protegido um bovino que realmente não está, porém, alternativamente se produz um aumento do risco de classificar como não protegido um bovino que está protegido na realidade. Qualquer mudança de valor discriminante altera a sensibilidade e especificidade da prova. Ao se reduzir o risco de falsos protegidos aumenta-se a especificidade, assim como também a capacidade de predição de proteção frente à febre aftosa para cada prova. Este problema é igual ao problema dos erros do tipo I e do tipo II na seleção de um nível de significância nas provas estatísticas de hipóteses. Ao se aumentar a sensibilidade torna-se menor a especificidade e, inversamente, ao se aumentar a especificidade, diminuir-se-á a sensibilidade. Os modelos de combinações de sensibilidade e especificidade, associados a vários valores discriminantes de anticorpos, para cada uma das provas, ficam determinados pela forma das duas distribuições e o intervalo de valores no

qual existe sobreposição delas.

A seleção de um valor discriminante de uma prova diagnóstica é uma decisão administrativa a ser tomada, a qual se deve basear nos efeitos que resultarão dos diferentes riscos de erro de classificação a eles associados. Por esta razão, neste trabalho foram selecionados valores de anticorpos para classificar os bovinos em protegidos e não protegidos, considerando reduzir a um mínimo possível o risco do erro tipo falso protegido. Sob as hipóteses de que as três amostras de bovinos primovacinaados não apresentavam "a priori" diferenças no que diz respeito à imunidade antiaftosa e que as vacinas aplicadas foram todas de qualidade semelhante, a seleção ótima de um valor discriminante, nestas condições, tem dado em todos os casos para a prova de soroneutralização em tubos (SNV) uma vantagem sobre a prova de soroproteção em camundongo lactante (MPI) é muito maior ainda sobre a microneutralização (MNT). Para os valores discriminantes escolhidos, SNV apresenta menor risco de erro de classificação, maiores níveis de sensibilidade, especificidade e capacidade de predição de proteção frente à febre aftosa, resultando assim, o mecanismo indireto de maior validade para estudar o estado imunitário contra a febre aftosa, em procedimentos de triagem. Isto, porém, não se deve interpretar no sentido de que esta prova tenha que ser adotada excluindo as outras. É necessário ter em conta que embora todos os programas nacionais de controle da febre aftosa da América do Sul tenham condições técnicas para realizar esta prova, não é menos certo que nem sempre é possível, em algum deles, principalmente por falta de condições estáveis que asseguram contar em forma oportuna e permanente com todos os elementos materiais indispensáveis para seu desenvolvimento. Tendo-se em conta a viabilidade destas provas, a soroproteção em camundongo lactante (MPI) resulta um procedimento também de valor prático para os estudos do estado imunitário da população bovi-

na contra a febre aftosa nos países do continente. Esta prova é aplicada praticamente por todos os laboratórios sorológicos de apoio aos programas oficiais de controle da febre aftosa nos países da América do Sul. Entretanto, desde o ponto de vista da validade sob a limitação de só considerar bovinos primovacinados, para classificar o estado imunitário, o teste de soroneutralização em todos (SNV) deveria ter incentivada sua utilização.

Apresentar-se-iam como limitações relativas à aplicação dos resultados deste trabalho, o fato de corresponderem a bovinos primovacinados, entre 18 e 24 meses de idade, cujas respostas foram avaliadas aos 30 DAV. Tendo-se em vista esta situação, seria recomendável a utilização destes resultados com certa cautela. Porém, a situação imunitária do grupo de bovinos considerados neste trabalho não é muito diferente de que pode ser encontrada em várias populações bovinas de áreas endêmicas da América do Sul, submetidas a vacinação massivas periodicamente. O nível de imunidade antiaftosa global é de $680/1201 = 0,716$, proporção significativamente menor que a estabelecida nos testes oficiais de controle de qualidade das vacinas feitas aos 30 DAV (80% de animais protegidos à descarga de vírus); também os valores ótimos de anticorpos para triagem de estado imunitário obtidos neste trabalho são mais baixos que os exigidos nas mesmas provas de controle de vacina aos 30 DPV. Considerando estes argumentos, os valores aqui propostos poderiam se aproximar do estado imunitário possível de ser encontrado em um momento médio entre duas vacinações, em regiões onde se aplicam vacinas de boa qualidade em forma obrigatória a cada quatro meses. No entanto, está-se aplicando a metodologia proposta para períodos pós-vacinação mais prolongados, considerando animais revacinados.

É necessário salientar a importância deste trabalho para os estudos epidemiológicos, desde que se forneçam valores de anticorpos que permitam fazer uma triagem dos bovinos de acordo com o estado imunitário. Por outro

lado, dado que a partir deste trabalho se conhecem os níveis de erros de classificação, é possível fazer um controle estatístico dos erros e assim chegar a estimar a taxa verdadeira de protegidos (P_{FA}) frente à febre aftosa numa população bovina qualquer, a partir do nível de anticorpos (método imperfeito de classificação). Ao tomar uma amostra de "n.." bovinos e examinados seus soros por qualquer dos três testes, cuja sensibilidade (U) e especificidade (V) são conhecidas, "n.₁" desses bovinos serão classificados como protegidos. Então, um óbvio estimador de P_{FA} é a proporção da amostra classificada como protegida pelo teste sorológico, ou seja, a aparente taxa de protegidos será:

$$\hat{p}_s = \frac{n_{.1}}{n..}$$

o subscrito "s" indica que trata-se de um estimador imperfeito a partir de valores sorológicos. De acordo com a notação já feita, a capacidade de predição de proteção de um teste sorológico é:

$$G = \frac{n_{11}}{n_{.1}}$$

e a probabilidade de falsos não protegidos é:

$$F(0) = \frac{n_{10}}{n_{.0}}$$

então é facilmente verificável que uma estimação da taxa verdadeira de proteção frente à febre aftosa se pode calcular assim:

$$P_{FA} = (G) (\hat{p}_s) + F(0) (1 - \hat{p}_s)$$

Enquanto que a estimação do erro padrão de " \hat{p}_s " é estimado por:

$$S(\hat{p}_s) = \sqrt{(\hat{p}_s)(1 - \hat{p}_s)/n..}$$

o correspondente à taxa verdadeira de proteção P_{FA} é mais complicada por incluir um fator de correção (f.c.) de tal que:

$$S(\text{PFA}) = \sqrt{\frac{(\text{PFA})(1 - \text{PFA})(\text{f.c.})}{n..}}$$

A estimação deste último erro padrão se deriva dos trabalhos de TENENBEIN (1971) e ASTUDILLO (1978). Estudos em curso tratam este tema da estimação da taxa populacional assim como de critérios a serem considerados em procedimentos de triagem para reduzir os níveis de erro.

6. CONCLUSÕES

É desenvolvida uma metodologia geral aplicável a estudos epidemiológicos de triagem, e que neste caso permitiu:

- a) a escolha de um valor ótimo de anticorpos, de maneira que a triagem do estado imunitário do gado frente à febre aftosa seja feita com um nível mínimo de erros de classificação;
- b) avaliar as proporções de falsos protegidos e falsos não protegidos, assim como a sensibilidade, especificidade e a capacidade de predição de proteção e de não proteção, para os valores de anticorpos eleitos para o estudo da triagem do estado imunitário do gado;
- c) controlar os erros de classificação dos testes indiretos, de forma tal que seja possível estimar sem vício a taxa de animais protegidos frente à febre aftosa na população, utilizando só o nível de anticorpos;
- d) prognosticar as proporções de falsos protegidos e falsos não protegidos para diferentes níveis de imunidade anti-aftosa na população bovina e conhecer seus modelos de variação.

A aplicação desta metodologia tornou evidente que

o teste de soroneutralização em tubos apresenta maior efetividade na avaliação do estado imunitário do gado frente à febre aftosa, pelas seguintes razões:

- a) menor risco para ambos os tipos de erros de classificação, para o valor ótimo de triagem encontrado, tanto quando a razão do risco de falsos protegidos a falsos não protegidos é igual, assim como quando os primeiros são considerados duplamente mais prejudiciais;
- b) maior validade, especialmente pela mais alta especificidade, sendo para este indicador significativa sua diferença em relação com a microneutralização em placas;
- c) maior capacidade de predição do estado imunitário, notadamente em relação aos não protegidos, onde apresenta diferenças significativas com respeito ao índice de soroproteção e a microneutralização em placas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABREU MARTINS, I. Vacunas antiaftosa hidróxido-saponi-
nadas inactivadas por el formol. Bol. CPFA, 1:1-19,
Rio de Janeiro, 1971.
2. ANDERSON, T.W. An introduction to multivariate statistical
analysis. Wiley, New York, 1958.
3. ASTUDILLO, V.M. Estimación do estado imunitário da po-
pulação bovina contra a febre aftosa. Seminário. De-
partamento de Medicina Veterinária Preventiva da UFMG.
Belo Horizonte, 1978.
4. AUGÉ DE MELLO, P.; ASTUDILLO, V.; GOMES, I.; CAMPOS GARCIA,
J.T. Aplicación en el campo de vacuna antiaftosa o-
leosa e inactivada: vacunación y revacunación de bo-
vinos jóvenes. Bol. CPFA, Rio de Janeiro, 19-20:31-8,
1975.
5. BROSS, I. Misclassification in 2 x 2 tables. Biometrics,
Washington, 10:478-86, 1954.
6. CENTRO PANAMERICANO DE FEBRE AFTOSA. Manual de procedi-
mientos para el control de las vacunas antiaftosas.
Serv. Man. Técn. n° 2, Rio de Janeiro, 1974.
7. COPELAND, K.T.; CHECKAWAY, H.; McMICHAEL, A.J.; HOLBROOK,
R.H. Bias due to misclassification in the estimation
of the relative risk. Am. J. Epidemiol., Baltimore ,
105:488-95, 1977.

8. CUNHA, R.G.; BAPTISTA JR., J.A.; SERRÃO, U.M.; TORTURELLA, I. El uso de los ratones lactantes en la evaluación de anticuerpos contra el virus de la fiebre aftosa y su significación inmunológica. Gac. Vet., Buenos Aires, 19(110):243-627, 1957.
9. DIAMOND, E.L.; LILIENFELD, A.M. Effects of errors in classification and diagnosis in various types of epidemiologic studies. Am. J. Publ. Health, Washington, 52:1137-44, 1962.
10. FERREIRA, M.E.V. Prueba de microneutralización para estudios de anticuerpos de la fiebre aftosa. Bol. CPFA, Rio de Janeiro, 21-22:17-20, 1976.
11. FLEISS, J.L. Statistical methods for rates and proportions. Wiley, N. York, 1973.
12. GAIL, M.H.; GREEN, S.B. A generalization of the one-sided two sample Kolmogorov-Smirnov statistica for evaluating diagnostic tests. Biometrics, Washington, 32: 561-70, 1976.
13. GLADEN, B. & ROGAN, W.J. Misclassification and the design of environmental studies. Am. J. Epidemiol., Baltimore, 109:607-16, 1979.
14. GOLDBERG, J.D. The effects of misclassification on the bias in the difference between two proportions and the relative odds in the fourfold table. J. Amer. Stat. Ass., Washington, 70:561-7, 1975.
15. GOMES, I. & ASTUDILLO, V. Foot-and-mouth disease evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. Bol. CPFA, Rio de Janeiro, 17-18:9-16, 1975.
16. KEYS, A. & KILHLBERG, J.K. Effect of misclassification on estimated relative prevalence of a characteristic. Part I: Am. J. Publ. Health, Washington, 53:1656-65, 1963.
17. LAWRENCE, C. & GREENWALD, P. Epidemiologic screening: a method to odd efficiency to epidemiologic research. Am. J. Epidemiol., Baltimore, 105:575-81, 1977.

18. LEWIS, A.L. Bioestatistics. Reinhold, New York, 1966.
19. NEWELL, D.J. Errors in the interpretation of errors in epidemiology. Am. J. Publ. Health, Washington, 52: 1925-8, 1962.
20. PAMFMD/PAHO/WHO (PAN AMERICAN FOOT-AND-MOUTH DISEASE CENTER). Immunitary records. Caixa Postal, 589 20000, Rio de Janeiro, Brasil, 1979.
21. QUADE, D.; LACHEMBRUCH, P.A.; WHALEY, F.S.; McCLISH, D. K.; HALEY, R.W. Effects of misclassification on statistical inferences in epidemiology. Am.J.Epidemiol., Baltimore, 111:503-15, 1980.
22. SUTMÖLLER, P. & VIEIRA, A. Relationship of neutralizing antibody titers for foot-and-mouth disease virus and the protection of cattle at challenge (no prelo). Bol. CPFA, Rio de Janeiro.
23. TENENBEIN, A. A double sampling scheme for estimating from binomial data with misclassifications: sample size determination. Biometrics, Washington, 27:935-44, 1971
24. THORNER, R.M. & REMEIN, Q.R. Principles and procedures in the evaluation of screening for disease. Monograph nº 67, U.S. Publ. Health Serv., Chronic Dis. Division, 1961. Atlanta, Georgia, USA.
25. VECHIO, T.J. Predictive value of a single diagnostic test in unselected populations. New Eng. J. Med., Boston, 274:1171-4, 1966.