

PRECISION DE LA PRUEBA DE SEROPROTECCION EN LA EVALUACION
DEL NIVEL DE ANTICUERPOS DE FIEBRE AFTOSA

PRECISION OF THE MOUSE PROTECTION TEST IN EVALUATING
FOOT-AND-MOUTH DISEASE ANTIBODY LEVELS

Vicente M. Astudillo*; Ivo Gomes*;
Melba Wanderley*

RESUMEN

El índice de seroprotección (ISP) evalúa el nivel de anticuerpos circulantes contra la fiebre aftosa. Se estudian los límites de variación tolerable al repetir las determinaciones del ISP en un mismo suero bovino en condiciones ciegas. Los resultados muestran un alto nivel de semejanza ($P < 0,01$) siendo la desviación estándar de $\pm 0,24$. Este valor tiene importancia en el control de calidad de las determinaciones del ISP.

ABSTRACT

The mouse protection index (MPI) evaluates the level of foot-and-mouth disease circulating antibodies. The tolerance limits of variation were studied in this paper by repeating MPI observations on the same cattle serum under blind conditions. The results showed a high degree of similarity ($P < 0.01$) with a standard deviation of ± 0.24 . This value is important in the quality control of MPI observations.

INTRODUCCION

La prueba de seroprotección (SP) fue propuesta por Cunha *et al.* (1) para medir el nivel de anticuerpos circulantes y de esta manera evaluar la resistencia de los bovinos expuestos al virus de la fiebre aftosa (FA). Gomes y Astudillo (2) han verificado la validez de la SP para medir el estado inmunitario de una población bovina da-

INTRODUCTION

The mouse protection test (MPT) was proposed to measure the level of circulating antibodies in assessing resistance of cattle upon exposure to foot-and-mouth disease (FMD) virus by Cunha *et al.* (1). Gomes and Astudillo (2) tested the validity of the MPT to measure the immune state of a given cattle population through the

* Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, Caixa Postal 589, ZC-00, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

da, relacionando los valores de la SP con la expectativa porcentual de protección (EPP).

Las variaciones que los valores de la SP presentan pueden ser atribuidas a las diferencias inmunitarias de los individuos de la población estudiada o a los errores de medición. Esta última fuente incluye los errores de los observadores, de los instrumentos y de lo observado. Este trabajo pretende estudiar la precisión de la SP con el objetivo de establecer intervalos dentro de los cuales la variación de los resultados sea aceptable, o sea los márgenes de "tolerancia de los errores de medición". Las fuentes de variación mencionadas fueron reducidas por ser el mismo técnico el que llevó a cabo las replicaciones de esta prueba en el mismo suero.

MATERIAL Y METODOS

Fueron usados 64 bovinos Hereford, puros por cruce, 32 machos y 32 hembras. Tenían 17 a 18 meses de edad cuando la mitad de ellos fue vacunada contra la fiebre aftosa con vacuna trivalente inactivada. A los 21 días después de la vacunación se colectó suero de los 64 bovinos. Para cada suero se hicieron dos replicaciones del índice de seroprotección (ISP) para cada uno de los tres tipos de virus, en condiciones "ciegas". Se ha llamado "clase" a cada par de replicaciones para cada tipo de virus en cada suero.

Para medir la precisión se usaron dos indicadores. El primero, el coeficiente de semejanza (S_i) mide el grado de uniformidad de los resultados

expected percentage of protection (EPP), associated with the individual values of the MPT.

Variations in MPT results may be attributed to actual individual differences within the population being studied, or to variations caused by errors of measurement. The latter include errors of the observer, the instruments, and the object being observed. This paper attempts to refine the precision of MPT results by establishing acceptable margins of variation, or "tolerance of errors of measurement", which represent the interval of values within which the results can normally fluctuate.

These sources of variation were minimized by having the same worker carry out replications on the same sera.

MATERIALS AND METHODS

The 64 cattle used were crossbred Herefords, 32 males and 32 females, 17-18 months old when half were vaccinated against FMD with an inactivated trivalent vaccine. Sera from all 64 cattle were collected 21 days after vaccination. Two mouse protection index (MPI) replications were made on each serum sample for the 3 types of virus under "blind" conditions. Each two paired replications were defined as a "class".

Two indicators were used to measure the precision of the results obtained. The first, the coefficient of similarity (S_i) measured the degree of uniformity within each of the classes. S_i corresponds to an intraclass correlation coeffi-

dentro de cada clase. El S_i corresponde a un coeficiente de correlación intraclase. Puede ser calculado a partir de un análisis de varianza en el cual $(\hat{\sigma}^2 + n\hat{\sigma}_c^2) = VE$ representa la variación entre las clases y $\hat{\sigma}^2 = VD$ representa la variación dentro de las clases (3). En cada clase hay $n = 2$ observaciones. La siguiente fórmula puede ser usada para calcular el coeficiente de semejanza:

S_i can be calculated using an analysis of variance, in which $(\hat{\sigma}^2 + n\hat{\sigma}_c^2) = VE$ is the variation between classes and $\hat{\sigma}^2 = VD$ is the variation within classes (3). In each class there are $n = 2$ observations. Thus, the following formula may be used to calculate the coefficient of similarity:

$$S_i = \frac{\hat{\sigma}_c^2}{\hat{\sigma}^2 + \hat{\sigma}_c^2} = \frac{VE - VD}{VE + (n - 1) VD}$$

El segundo indicador expresa en los mismos términos de ISP, la variación entre dos observaciones dentro de la misma clase:

The second indicator expresses in terms of the MPT the variation between two observations within the same class:

$$SD = \sqrt{\frac{d^2}{2}}$$

donde SD es la desviación estándar y $d = (X_{i.1} - X_{i.2})$. Dado que hay muchas clases (k), se propone aplicar una desviación estándar promedio (ASD) (4):

where SD is the standard deviation and $d = (X_{i.1} - X_{i.2})$. However, since there are many classes (k), an indicator of the averaged standard deviation ASD is proposed (4):

$$ASD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^K d_i^2}{2K}}$$

RESULTADOS

Los sueros bovinos fueron clasificados en "altos" ($ISP \geq 3,0$), "medianos" ($1,0 < ISP < 3,0$) y "bajos" ($ISP < 1,0$) de acuerdo con el valor índice de seroprotección.

Los valores altos del ISP presentan una gran homogeneidad dentro de las clases. Sin embargo, con frecuencia valores del ISP que alcanzan este nivel no tienen un "punto-final" definido. Por otra parte, los valores del $ISP > 3,0$ tienen una expectativa porcentual de protección que alcanza a 100 (2).

Las replicaciones del ISP en los 32 sueros de bovinos no vacunados fueron "bajos" indicando que todos estos animales eran susceptibles a la FA (2).

La Tabla 1 resume los resultados de la aplicación de los indicadores de precisión a la SP. En ganado vacunado, con ISP altos, el grado de variación dentro de las clases fue pequeño y así el coeficiente de semejanza fue estadísticamente significativo ($P < 0,01$). El error de medición correspondiente a este nivel fue $\pm 0,18$. En los ISP "medianos" la ASD muestra una importante diferencia con respecto al valor anterior, alcanzando a $\pm 0,35$. Para este nivel, si fue también estadísticamente significativo ($P < 0,01$).

Los bovinos no vacunados presentaron una ASD = $\pm 0,20$, valor parecido al de los sueros de animales vacunados con ISP de nivel alto. El coeficiente de semejanza, aunque de valor menor que los dos anteriores, también es significativo desde el punto de vista estadístico ($P < 0,01$).

Cuando todos los animales fueron considerados en conjun-

RESULTS

Sera from vaccinated cattle were classified according to high (≥ 3.0), median ($1.0 \leq MPI < 3.0$) and low (< 1.0) MPI levels. The high MPI values have great homogeneity within classes. However, for MPI values > 3.0 the expected percentage of protection reaches 100 (2) and often many MPI observations which reach this level may not have a defined end-point.

The MPI replications on the sera of the 32 unvaccinated cattle were low, indicating that all animals were susceptible to FMD (2).

Table 1 summarizes the results of the precision indicators for the MPT: With vaccinated cattle with the high MPI level, the degree of variation within classes was small, and thus the coefficient of similarity was statistically significant ($P < 0.01$). The error of measurement in MPI replications averaged ± 0.18 . With the median MPI level the ASD showed important differences in relation to high level. The average standard deviation was ± 0.35 . In this case also the coefficient of similarity was statistically significant ($P < 0.01$).

Unvaccinated cattle presented an ASD of ± 0.20 which is similar to that of the sera with the higher MPI in the vaccinated cattle. The similarity coefficient, although less than the two other values, was also statistically significant ($P < 0.01$).

When all the animals were considered together, the coefficient of similarity was very high and statistically significant ($P < 0.01$). In this case, the indicator of the MPT's er-

to, el coeficiente de semejanza fue muy alto y estadísticamente significativo ($P < 0,01$). Para esta situación la ASD correspondiente alcanzó a $\pm 0,24$.

La SD dentro del nivel "mediano" del ISP no presentó correlación con la media aritmética del mismo par de valores del ISP, dado que $r = 0,12$ ($P > 0,1$)*.

ror of measurement was ± 0.24 .

The SD within median level was not associated with the arithmetic mean of the same pair of MPI values, given that $r = 0.12$ ($P < 0.1$)*.

TABLA 1: *Indicadores de precisión del índice de seroprotección*
TABLE 1: *Mouse protection index precision indicators*

Situaciones Situations		Coefficiente de semejanza Similarity coefficient	Desviación estándar promedio Averaged standard deviation
Bovinos vacunados Vaccinated cattle	Nivel alto High level	0,77**	0,18
	Nivel mediano Median level	0,74**	0,35
Bovinos no vacunados Unvaccinated cattle	Nivel bajo Low level	0,57**	0,20
	Conjunto Pooled	0,98**	0,24

** $P < 0,01$.

DISCUSION

Cuando se hacen determinaciones de las SP repetidas en un grupo de sueros, la variación que presentan los resultados puede descomponerse en variación entre los sueros (VE) y variación dentro de los sueros (VD). Esta última corresponde

* Coeficiente de correlación rectilíneo.

DISCUSSION

When repeated observations are made on a group of sera, the variations in results consist of variation between sera (VE) and variations within sera (VD), or the variations between repeated observations on the same serum. If there are no differences between the values

* Correlation coefficient.

a la variación entre los ISP de determinaciones repetidas en un mismo suero. Si ninguna diferencia existe entre los valores de determinaciones repetidas para un mismo suero, entonces $VD = 0$ y $S_i = 1$. El coeficiente de semejanza alcanza así su más alto valor cuando no hay variación entre determinaciones repetidas en un mismo suero.

Los niveles "alto" y "bajo" de valores del ISP varían sólo levemente, sea porque son valores límites, sea porque uno o ambos valores de una clase pueden alcanzar un "techo" artificial. En el nivel "mediano" los valores del ISP muestran gran variación. Por esa razón, para este nivel se estudió si existía correlación entre la media aritmética y la SD de las clases. Dado que estos dos estadísticos resultaron ser independientes no fue necesario hacer ajustes en la ASD correspondiente.

Cualquier determinación del ISP de un suero tiene una probabilidad de 95% de alejarse del valor verdadero en no más de 1,96 veces $\pm 0,24$, o sea $\pm 0,47$. Este valor puede ser considerado como la precisión de la SP y puede ser utilizado para el control de calidad de las mediciones de la SP.

obtained within sera, then $VD = 0$, and $S_i = 1$. The coefficient of similarity thus reaches its highest value when no variations exist between repeated observations within sera.

The high and low values of the MPI vary only slightly, since they are limiting values, and since at least one of the values or both may reach an artificial ceiling. The median MPI values show a greater variation. For this reason in the last-mentioned level, a correlation coefficient was calculated between the arithmetic mean and the SD. Adjustments in ASD are not necessary for different magnitudes of arithmetic means, because the two statistics are independent.

Any MPI observation has then a 95% probability of varying around the true value by no more than 1.96×0.24 , or ± 0.47 . This value may be considered as the precision of the MPT, and it can be used to control the quality of measurement in the performance of this test.

REFERENCIAS - REFERENCES

1. CUNHA, R.G.; BAPTISTA JUNIOR, 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.*, B. Aires, 19 (110): 243-267, 1957.
2. GOMES, I.; ASTUDILLO, V. Foot-and-mouth disease: evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bltn Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 17-18: 9-16, 1975.

3. SNEDCOR, G.W.; COCHRAN, W.G.
In *Statistical methods, 6th ed. Chapter 10*, the Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1973.
4. THORNER, R.M.; REMEIN, Q.R.
Principles and procedures in the evaluation of screening for disease. *Public Health Monograph 67*, Washington, D.C., 1961.