

January 2017

Concordancia entre la prueba del anillo en leche y ELISA indirecto en el diagnóstico de brucelosis bovina

Rubén Darío Moreira Zúñiga
Universidad Santo Tomás, rmoreira@santotomas.cl

Follow this and additional works at: <https://ciencia.lasalle.edu.co/mv>

Citación recomendada

Moreira Zúñiga RD. Concordancia entre la prueba del anillo en leche y ELISA indirecto en el diagnóstico de brucelosis bovina. Rev Med Vet. 2017;(33): 93-101. doi: <https://doi.org/10.19052/mv.4057>

This Artículo de Investigación is brought to you for free and open access by the Revistas científicas at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Revista de Medicina Veterinaria by an authorized editor of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

Concordancia entre la prueba del anillo en leche y ELISA indirecto en el diagnóstico de brucelosis bovina

Rubén Darío Moreira Zúñiga¹

Resumen

Los análisis de concordancia se usan para comparar métodos de diagnósticos cuando se aplican al mismo grupo de individuos (muestras pareadas). En el presente artículo se analiza el caso de dos métodos de laboratorio, cuyos resultados se expresaron en forma de variable cualitativa dicotómica (positivo/negativo). Para analizar el problema de la concordancia se utilizó el método *visión dual de la concordancia*, que se basa en un supuesto principal: dos métodos diagnósticos concuerdan cuando tienen la misma sensibilidad y especificidad. El estudio fue realizado con 153 muestras de leche correspondientes a igual cantidad de rebaños de la zona central de Chile; estos se clasificaron en tres estratos, definidos según el número de vacas en lactancia en el momento de obtener la muestra. Se aplicó la metodología estándar para prueba del anillo en leche (PAL) y ELISA indirecto (ELISA-i). Para determinar la concordancia entre los dos métodos diagnósticos, se utilizaron los valores observados en los tres estratos (A, B y C); para cada uno se calculó la tasa de concordancia (λ). Los resultados de concordancia obtenidos fueron altos en todos los estratos, por lo que se concluye que tanto PAL como ELISA-i se podrían usar para diagnosticar la brucelosis bovina.

Palabras clave: brucelosis, concordancia, especificidad, sensibilidad.

Concordance between milk ring test and indirect ELISA in the diagnosis of bovine brucellosis

Abstract

Concordance analysis are used to compare diagnostic methods when applied to the same group of individuals (paired samples). This article analyses the case of two laboratory methods, whose results are expressed in form of dichotomous qualitative variable (positive/negative). In order to analyze the problem of concordance, the dual-vision method for analysis of agreement was used, which is based on a main assumption: two diagnostic methods agree when they have the same sensibility and specificity. The study analyzed 153 milk samples corresponding to the same number of herds in the central area of Chile; these were classified into three strata, defined by the number of lactating cows at the time of obtaining the sample. Standard methodology of milk ring test (MRT) and indirect ELISA (ELISA-i) were performed. To determine the concordance between these two diagnostic methods, values observed in all three strata (A, B, and C) were used; for each one, concordance rate (λ) was calculated. Concordance rates were high in all strata, so the study concludes that both MRT and ELISA-i could be used to diagnose bovine brucellosis.

Keywords: brucellosis, concordance, specificity, sensitivity.

¹ Médico veterinario. MSc.,
Universidad Santo Tomás, Es-
cuela de Medicina Veterinaria,
Santiago, Chile.
✉ rmoreira@santotomas.cl

Cómo citar este artículo: Moreira Zúñiga RD. Concordancia entre la prueba del anillo en leche y ELISA indirecto en el diagnóstico de brucelosis bovina. Rev Med Vet. 2017;(33):93-101.
doi: <http://dx.doi.org/10.19052/mv.4057>

Concordância entre a prova do anel em leite e ELISA indireto no diagnóstico de brucelose bovina

Resumo

As análises de concordância se usam para comparar métodos de diagnósticos quando se aplicam ao mesmo grupo de indivíduos (amostras pareadas). Neste artigo analisa-se o caso de dos métodos de laboratório, cujos resultados expressaram-se em forma de variável qualitativa dicotômica (positivo/negativo). Para analisar o problema da concordância se utilizou o método *visão dual da concordância*, baseado em um suposto principal: dos métodos diagnósticos concordam quando têm a mesma sensibilidade e especificidade. O estudo foi realizado com 153 amostras de leite correspondentes a mesma quantidade de rebanhos da zona central de Chile; estes se classificaram em três estratos, definidos segundo o número de vacas em lactação no momento de obter a amostra. Se aplicou a metodologia padrão para prova do anel em leite (PAL) e ELISA indireto (ELISA-i). Para determinar a concordância entre os dos métodos diagnósticos, se utilizaram os valores observados nos três estratos (A, B e C); para cada um se calculou a taxa de concordância (λ). Os resultados de concordância obtidos foram altos em todos os estratos, razão pela qual se conclui que tanto PAL quanto ELISA-i poderiam ser usadas para diagnosticar a brucelose bovina.

Palavras chave: brucelose, concordância, especificidade, sensibilidade.

INTRODUCCIÓN

Los test diagnósticos tienen importantes aplicaciones en la medicina veterinaria poblacional, así como en actividades de vigilancia y certificación de predios libres de enfermedades. Esta habilidad para diagnosticar enfermedades es una de las más importantes herramientas que tiene disponible el médico veterinario (1). La prueba del anillo en leche (PAL) puede utilizarse para el diagnóstico de la brucelosis en rebaños; sin embargo, la principal limitación es el factor de dilución, que ocurre en los grandes rebaños lecheros; por tanto, puede ajustarse para compensarlo. En el caso del ELISA indirecto (ELISA-i), a efectos de una armonización internacional, los laboratorios nacionales de referencia deben utilizar los tres sueros estándar de la Organización Mundial de Sanidad Animal para ELISA, con el fin de comprobar o calibrar el método analítico en estudio (2).

Los análisis de concordancia se usan específicamente para comparar diversos métodos clínicos entre sí, cuando son aplicados al mismo grupo de individuos (muestras

pareadas). La manera tradicional de efectuar este tipo de análisis ha sido mediante modelos estadísticos que comparan dos proporciones; sin embargo, también se ha realizado la asociación matemática entre dos factores (3). La concordancia está focalizada en la equivalencia y no entrega información acerca de cuál método es la mejor opción. El hecho de que el nuevo método no concuerde con el tradicional no significa que sea peor (o mejor) que este (4).

La fórmula propuesta para decidir si se reemplaza el método tradicional por uno nuevo es por comparación de sensibilidad y especificidad (5); ello indica cuán efectivo es el test en identificar rebaños con la enfermedad (sensibilidad) o sin esta (especificidad) (6). Además, se requiere aplicar el índice de Youden (J), que mide la probabilidad de clasificaciones correctas, independientemente de la prevalencia (7).

En el presente estudio se analiza el caso de dos métodos de laboratorio (PAL y ELISA-i), cuyos resultados expresados en escala ordinal y continua fueron subse-

cuentemente dicotomizados (positivo/negativo). Los procedimientos *kappa*, *phi* y *yule* son las aproximaciones usuales para analizar concordancia entre dos métodos diagnósticos u observados en casos dicotómicos o binarios (8), y se pueden aplicar cuando los datos son categóricos y descansan en una escala nominal (9).

El coeficiente *kappa* es una medida de concordancia entre dos evaluaciones categóricas (7). La magnitud de *kappa* está influenciada por el grado de concordancia, así como por la prevalencia de la afección que se está testeando. Según Dohoo, Martin y Stryhn (10), cuando esta es muy alta o muy baja, *kappa* se vuelve inestable. El coeficiente *phi* corresponde a una evaluación de la asociación entre dos conjuntos de atributos medidos en una escala nominal donde cada uno puede tomar solo dos valores (8); este método supone una ventaja al no depender de la prevalencia en los totales marginales, a diferencia de *kappa*. El coeficiente de asociación de *yule* es una medida de asociación entre variables nominales cuyos datos están organizados en una tabla de contingencia de 2×2 (11).

Para analizar el problema de la concordancia entre PAL y ELISA-i para detección de brucelosis en rebaños lecheros, se utilizó el método *visión dual de la concordancia*, que se basa en un supuesto principal: dos métodos clínicos concuerdan cuando tienen la misma sensibilidad y especificidad (4).

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio fue realizado con 153 muestras de leche correspondientes a igual cantidad de rebaños bovinos de la zona central de Chile; estos fueron clasificados en tres estratos, definidos según el número de vacas en lactancia al momento de obtener la muestra:

- Estrato A o pequeño: 1 a 100 vacas
- Estrato B o medio: 101 a 200 vacas
- Estrato C o grande: más de 201 vacas

Se obtuvieron 10 ml de leche desde los estanques recolectores, en tubos de vidrio con 1 ml de formalina al 1%,

que fueron recibidos y procesados en el Laboratorio Oficial del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) de Chile. Se aplicó la metodología estándar para PAL y ELISA-i.

Para la realización de la PAL se utilizó antígeno *Brucella abortus Ringtest*, de National Veterinary Services Laboratories (NVSL), Ames, Estados Unidos, serie 50302. Una vez colectadas, las muestras se mantuvieron refrigeradas a una temperatura entre 4 y 6 °C, por 24 h mínimo desde su recolección. Tanto las muestras de leche como el antígeno se mantuvieron a temperatura ambiente una hora antes de realizar la prueba. De cada tubo de muestra de leche homogeneizada se extrajo un cierto volumen, dependiendo del número de vacas en ordeño en cada rebaño de la siguiente manera:

- Menos de 100 vacas: 1 ml
- 101 a 200 vacas: 2 ml
- Sobre 201 vacas: 3 ml

Las muestras se introdujeron en tubos de vidrio individuales a los que se les agregó, con micropipeta, una gota de 30 μ l (0,03 ml) del antígeno. Esta mezcla se homogeneizó nuevamente, y se incubó durante 1 h a 37 °C. La lectura de resultados negativos o positivos se realizó de inmediato, de acuerdo con la ausencia o presencia, respectivamente, de un anillo en cada tubo. La magnitud clínica usualmente se puede transformar en un caso binario, adoptando un punto de corte para separar un caso positivo de uno negativo (4). La prueba de ELISA-i en leche se realizó luego en todas las muestras de leche que se mantuvieron congeladas a -20 °C, mediante el protocolo de Nielsen y colaboradores (12).

Para determinar el desarrollo del color en cada pocillo de las placas, estas se leyeron en un espectrofotómetro con lector ELISA Multiskan Ex[®], a 405 nm de densidad óptica. Los datos fueron interpretados en valores de absorbancia, comparándolos con suero fuertemente positivo (C++), que arroja un valor mayor igual a 1,0. El valor de DO del suero C+ es de, aproximadamente, 0,500 y cerca de 0,100 en suero negativo (C-). Los resultados clínicos fueron considerados positivos o negativos al test.

Para el análisis de concordancia clínica se utilizó el método de *visión dual* descrito por Azzimonti (4). En este contexto, dos métodos de diagnóstico son igualmente sensibles y específicos (8). El procedimiento del método de visión dual consta de una etapa estadística y otra clínica.

Visión estadística del problema

Está dirigida a verificar si hay concordancia estadística; se utilizan tres pruebas para verificar la hipótesis nula ($H_0: b = c$), a saber: McNemar con la corrección de Yates, Q-test de Cochran (8) y McNemar Likelihood (G-Test) con la corrección de Williams o método de los individuos doblemente testeados. Esta prueba es más potente que las dos anteriores. Se calcula el valor G corregido y se lo compara con el valor crítico de χ^2 para un 95 % de confianza. Si $G > 3,841$, las evidencias muestran que los métodos no tienen la misma sensibilidad y especificidad; si $G < 3,841$, no hay evidencias que permitan suponer que no se puedan intercambiar los métodos. Sin embargo, esto no es suficiente, ya que dichos test no consideran el tamaño muestral ni el nivel de concordancia: $\lambda = (a + d) / N$. Ello conduce a paradojas; por lo tanto, se aplica el segundo paso.

Visión clínica del problema

Consiste en determinar si la concordancia encontrada es suficiente desde el punto de vista clínico. Para ello se necesita definir un criterio clínico de aceptación; por ejemplo, la concordancia es aceptable cuando no hay más de una discordancia en 10 casos.

En este caso se usa el índice odds de discordancias (DO), $DO = (b + c) / (a + b) = 10/90$, es decir, $DO_{crítico}$ es igual a 1:9. Clínicamente, la concordancia será aceptable cuando no exista más de una discordancia en 10 casos (y 9 concordancias). También se puede usar el nivel de concordancia: $\lambda_{crítico} = 90\%$.

Con los datos medidos en el experimento se calcula el valor muestral de DO junto con su intervalo de confian-

za para el 95 % (límite superior = $\lambda + 1,96 DE [\lambda]$; límite inferior = $\lambda - 1,96 DE [\lambda]$). Luego se observa dónde ocurre el valor crítico. Si se presenta dentro del intervalo, o si es mayor que el límite superior de intervalo, la concordancia es aceptable desde el punto de vista clínico. En caso contrario, las pruebas diagnósticas no pueden intercambiarse. Cuando se han verificado ambas etapas, la decisión clínica puede ser adoptada. El caso más simple es la comparación de dos métodos binarios, cuyos resultados se presentan en una tabla de concordancia (tabla 1). Para el cálculo se utilizó el algoritmo para concordancia disponible en Medal (13).

Si uno de los dos métodos (por ejemplo, PAL) es el de referencia, entonces la tabla de concordancia se transforma en una tabla diagnóstica y se puede calcular la sensibilidad (S_2) y la especificidad (E_2) del otro método. Por el contrario, si se supone que el otro método (ELISA-i) es el de referencia, se pueden calcular ambos índices para el primer método (S_1 y E_1).

Tabla 1. Concordancia para la comparación de dos métodos binarios, según Azzimonti (5)

	Método 1		
	(+)	(-)	
Método 2 (+)	a	b	a + b
	c	d	a + d
(-)	a + c	b + d	N

Donde el significado de cada frecuencia se refiere a los individuos que muestran:

- a: ambos resultados (+) = concordancia en positivos;
- b: (-) con el primer método y (+) con el segundo = discordancia;
- c: (+) con el primer método y (-) con el segundo = discordancia;
- d: ambos resultados (-) = concordancia en negativos.

Nivel de concordancia (tasa de concordancia): $\lambda = (a + d) / N$ (expresado como porcentaje).

Para obtener una concordancia clínica aceptable entre los dos métodos apareados (PAL y ELISA-i), se verificaron los siguientes supuestos (14):

1. Es posible transformar los resultados del método de diagnóstico en un caso binario.
2. La sensibilidad y especificidad de ambos métodos debieran ser similares.
3. La variabilidad potencial de sensibilidad, especificidad y Youden no debiera ser de riesgo según la enfermedad estudiada.
4. El nivel de concordancia observado debe ser lo suficientemente alto.

RESULTADOS

Para determinar la concordancia entre las dos pruebas diagnósticas utilizadas, se obtuvieron los valores observados en los tres estratos estudiados (A, B y C). Posteriormente, para cada estrato se calculó la tasa de concordancia (λ). En la tabla 2 se muestran los resultados para el estrato A.

Tabla 2. Valores observados en el estrato A (1 a 100 vacas en lactancia)

		PAL		
		(+)	(-)	
ELISA-i	(+)	14	5	19
	(-)	4	74	78
		18	79	97

El “n” observado en este estrato correspondió a 97 rebaños, con un número máximo de 100 vacas en lactancia; se obtuvo una tasa de concordancia (λ) = 0,90 ($p > 0,05$), $kappa = 0,69$, $yules (Y) = 0,75$, $phi = 0,70$, para un valor $\lambda_{critico}$ de 90%; por lo tanto, la concordancia clínica para este caso se presentó dentro del intervalo cuyo límite superior fue de 96,5% e inferior de 84,95% (95% de confianza). De esta manera, se puede señalar que la concordancia clínica es aceptable cuando el valor de $\lambda_{critico}$ se presenta dentro del intervalo, o es menor que el límite inferior, por lo que la concordancia puede ser aceptada desde el punto de vista clínico.

Como se señaló, el DO se utiliza para estudiar el punto de vista clínico. En este caso, la discordancia (DO) obtenida fue de 0,10 valor que se ubica en un intervalo con límite superior de 0,16 e inferior de 0,04 (con un valor de 0,11), lo cual comprueba la concordancia clínica (cuando el valor de $DO_{critico}$ se presenta en el intervalo o es mayor que el límite superior). En el estrato A se obtuvo una sensibilidad relativa de 73,7% para el método 1 (PAL) y de 77,8% para el método 2 (ELISA-i), con la diferencia potencial de sensibilidad de 4,1% para la brucelosis bovina. La especificidad relativa para PAL fue de 94,8% y para ELISA-i de 93,7%; la diferencia potencial de especificidad para esta enfermedad fue de 1,1%.

Los resultados del estrato B se observan en la tabla 3, con un total de 30 rebaños. En este grupo $c = 0$, por lo que el G-test no puede ser usado; no obstante, este se puede reemplazar por el Q-test, que para este caso es más significativo.

Tabla 3. Valores observados en el estrato B (101 a 200 vacas en lactancia)

		PAL		
		(+)	(-)	
ELISA-i	(+)	10	1	11
	(-)	0	19	19
		10	20	30

En este estrato la tasa de concordancia fue de 0,97 (90% para $\lambda_{critico}$), valor muy cercano al límite inferior del intervalo (90,2%); el límite superior fue de 103,1% (95% de confianza), $kappa = 0,93$ y $phi = 0,93$. La discordancia fue de 0,034 y se ubicó en el intervalo con un límite superior de 0,101 e inferior de -0,032; esto demuestra que la concordancia clínica de ambos métodos es aceptable. En el estrato B la sensibilidad relativa para PAL fue de 90,9% y para ELISA-i de 100%, con la diferencia potencial de sensibilidad de 9,1%. La especificidad relativa para el método 1 fue de 100%, y para el método 2 de 95%, con la diferencia potencial de especificidad de 5,0%. En la tabla 4

se señalan los valores observados para el estrato C y un total de 26 rebaños. Como $b = 0$, $yule$ tiende a 1 y no importa el valor observado de concordancia en el estudio.

Tabla 4. Valores observados en el estrato C (más de 201 vacas en lactancia)

		PAL		
		(+)	(-)	
ELISA-i	(+)	3	0	3
	(-)	2	21	23
		5	21	26

En el estrato C la tasa de concordancia fue 0,92 con un valor de $\lambda_{\text{crítico}}$ de 90 %, el que ocurre dentro del intervalo, con un límite superior de 102,55 % y uno inferior de 82,06 % (95 % de confianza), $kappa = 0,708$ y $phi = 0,74$; por eso la concordancia clínica de ambos métodos es aceptable. Por otra parte, la DO arrojó un valor de 0,083, que se ubica dentro del intervalo cuyo límite inferior es de -0,027 y superior de 0,194 ($DO_{\text{crítico}} = 0,111$). Estos valores demuestran que existe concordancia clínica con un 95 % de confianza.

En el estrato C se obtuvo una sensibilidad relativa para PAL de 100 % y para ELISA-i de 60 %, por lo que la diferencia potencial de sensibilidad fue de 40 %. La especificidad relativa para el método 1 fue de 91,3 % y para el método 2 de 100 %, con la diferencia potencial de 8,7 %. En la tabla 5 se observan los resultados obtenidos para el total de rebaños muestreados. Se obtuvo un valor de G-test con corrección de Williams de $G_{\text{adj}} = 0,0$.

Tabla 5. Tabla de concordancia para el total de rebaños muestreados (n = 153)

		PAL		
		(+)	(-)	
ELISA-i	(+)	27	6	33
	(-)	6	114	120
		33	120	153

Al evaluar el total de rebaños, la concordancia de ambos métodos fue de 92,1 %, la cual es aceptable cuando el $\lambda_{\text{crítico}}$ (90 %) se ubica dentro del intervalo o es menor que el límite inferior, con el límite superior de 96,4 % e inferior de 87,9 %, con un 95 % de confianza, $kappa = 0,77$, $yules = 0,81$ y $phi = 0,77$.

En todos los rebaños muestreados el índice DO fue de 0,085 y se ubicó dentro de un intervalo de límite superior 0,131 e inferior 0,039 (valor crítico de DO 0,111) con un 95 % de confianza; por lo tanto, nuevamente la concordancia clínica es aceptable (DO se ubica dentro del intervalo o es mayor que el límite superior).

En todos los rebaños recolectados se obtuvo una sensibilidad relativa para PAL de 81,8 %, lo mismo que para el método ELISA-i; es decir, la diferencia potencial de detectar rebaños positivos entre ambas pruebas es de 0 %. Lo mismo ocurrió con los resultados de especificidad relativa, que correspondían a un 95 % para ambos métodos.

DISCUSIÓN

Este estudio se realizó con el fin de determinar y comparar la capacidad de las técnicas diagnósticas PAL y ELISA-i, para detectar anticuerpos anti-*Brucella abortus* en leche, así como para establecer su comportamiento diagnóstico en la detección de rebaños positivos (según el tamaño de estos), no obstante la existencia de un supuesto razonable respecto de su sensibilidad, la que variaría con el estado de infección o con el estatus inmune del huésped (14).

Para los tres estratos estudiados con el método de visión dual, se parte de la base que aceptar la hipótesis nula (H_0) significa que ambas pruebas son concordantes. Si la H_0 es rechazada, se aplica una validación para probar que no existe concordancia (6). El DO es simple y comprensible en su significado clínico, ya que cuando es igual a 1:9 indica que habrá una discordancia y 9 concordancias en 10 muestras ($\lambda = 90 \%$). Si el $DO = 0$, no hay discordancia y la concordancia sería perfecta. Cuando el DO es mayor que el valor de la concordancia, no es razonable esperar que la concordancia clínica sea aceptable, por lo tanto se

puede asumir que $0 \leq DO \leq 1$ y puede ser adoptada desde el punto de vista clínico (5).

Esta propuesta metodológica se enfoca en verificar que la sensibilidad y especificidad sean similares en ambos métodos usando el G-test (o el Q-test). Cuando la concordancia verificó dicha condición, se realizó la etapa siguiente; no obstante, con el objeto de desarrollar *in extenso* el método, se efectuó un análisis más exhaustivo para determinar el comportamiento de las variabilidades potenciales de los índices diagnósticos (sensibilidad y especificidad).

La realidad clínica se basa en los niveles de concordancia. Cuando los modelos teóricos (G-test, Q-test, χ^2 , *kappa*, *phi* o *yule*) no bastan para explicarla, entonces se debe buscar otro modelo como el que entrega el método propuesto en este estudio de visión dual. Las fallas de los modelos *kappa*, *phi* y *yule* se pueden ilustrar con las paradojas siguientes:

1. Ocurre cuando con diferentes valores de concordancia casual, los valores de *kappa*, *phi* y *yule* —para idénticos valores de concordancia observada (nivel de concordancia)— pueden ser dos veces más pequeños en una instancia que en otra.
2. Ocurre cuando totales marginales desbalanceados producen mayores valores de *kappa*, *phi* y *yule*, que totales más balanceados.
3. *Kappa*, *phi* y *yule* pueden ser nulos, no importa el valor obtenido del nivel de concordancia en el experimento realizado.
4. *Kappa*, *phi* y *yule* pueden ser negativos, no importa el valor obtenido del nivel de concordancia en el estudio efectuado.
5. Cuando *b* o *c* son nulos, *yule* tiende a uno (esto es concordancia perfecta), no importa el valor obtenido del nivel de concordancia en el estudio realizado.

Las cinco fallas anteriores muestran que ninguno de los modelos citados se ajusta al concepto de concordancia clínica, sino al de concordancia estadística (13). Aunque

se obtuvieron niveles de concordancia altos, se realizaron análisis más específicos para verificar las variaciones de sensibilidad y especificidad entre los métodos. Es así como en el estrato A la diferencia potencial de sensibilidad fue de 4,1 %, lo que implicaría que 4 de cada 100 rebaños no serían detectados. La especificidad fue de 1,2 %, lo que se interpretaría como que, a lo menos, un rebaño sería indicado como infectado, aunque esa no sea su real condición.

En el estrato B la diferencia potencial de sensibilidad fue de 9,1 %; por lo tanto, 9 de cada 100 rebaños no serían detectados. La diferencia potencial de especificidad fue de 5 %, lo que indica que 5 de cada 100 rebaños se asumirían como infectados sin ser esa su verdadera condición.

Por otra parte, el estrato C entregó una diferencia potencial de sensibilidad de 40 %, es decir, 40 de cada 100 rebaños no serían detectados. La diferencia potencial de especificidad fue de 8,7 %, lo que hace asumir que alrededor de 9 rebaños serían señalados como infectados, sin estar realmente en esa condición.

Cuando se consideró el total de rebaños, la diferencia potencial de detectar rebaños positivos fue de 0 %; este mismo valor se obtuvo para la diferencia potencial de especificidad, lo que induce a identificar un 0 % como rebaños infectados, aunque esa no es su real condición. Mediante el uso del método de visión dual se pudo explicar clínicamente que, como $b = c$ y al ser iguales a 6, no fue necesario usar G-test, ya que $G = 0$ y, según la segunda paradoja de Feinstein y Cicchetti, cuando $b = c$, G tiende a 0 (10).

Según Azzimonti, citado en Medal (13), se debe realizar un análisis más exhaustivo para analizar cuál es la variación potencial de la sensibilidad, especificidad y Youden, que podría ocurrir como consecuencia del intercambio de métodos. Cuando este cambio potencial no sea aceptable desde el punto de vista clínico, la concordancia debe ser rechazada, y cuando sea aceptable, se pasa a realizar la segunda etapa del método.

En los estratos B y C se dió la situación que $b = 0$ y $c = 0$, respectivamente, lo que lleva a inferir que cuando $b = 0$ o $c = 0$ la concordancia es perfecta. Esto concuerda con la quinta paradoja de Feinstein y Cicchetti, que señala que cuando b o c son iguales a 0, la concordancia es perfecta (8).

Al igual que en los estratos señalados anteriormente, cuando se consideró el total de rebaños se realizó el primer paso del procedimiento de visión dual, que es la visión estadística del problema. Este se focalizó en b y c , donde se observa que cuando $b = c$ la sensibilidad y especificidad de ambos métodos son equivalentes. Esta similitud se puede verificar confirmando la hipótesis nula con G-test de McNemar, en el que esta señala que existe similitud, ya que G-test es la mejor opción cuando b y c son mayores que 0 (8).

Se sabe que podrían existir diversos factores que influyen en la sensibilidad del PAL aplicado a muestras obtenidas de estanque de leche, tales como la proporción o número de vacas infectadas en el rebaño, si estas están secas o en lactancia, así como en calidad y producción de leche (7).

CONCLUSIONES

En consideración con los resultados de concordancia obtenidos para ambos métodos, se concluye que en todos los estratos esta sería alta, por lo que tanto PAL como ELISA-i se podrían usar para diagnosticar la brucelosis bovina.

La implementación de ELISA-i representa una herramienta alternativa diagnóstica de gran valor para los programas de control y erradicación de brucelosis bovina, en muestras de leche de rebaños bajo control oficial, lo que representa un gran aporte a los programas nacionales, en particular disminuyendo los costos operativos asociados en esta vigilancia sanitaria, en virtud de la facilidad de trabajar con un mayor número de muestras y rebaños para su diagnóstico.

REFERENCIAS

1. Pfeiffer DU. *Veterinary epidemiology: An introduction*. New York: Wiley-Blackwell; 2010.
2. Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). *Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres* [internet]. 2015 [citado 2016 ene. 16]. Disponible en: <http://www.oie.int/es/normas-internacionales/manual-terrestre/acceso-en-linea/>
3. Azzimonti JC. La concordancia entre dos tests clínicos para casos binarios: problemas y solución. *Acta Bioquim Clin Latinoam*. 2005;39(4):435-44.
4. Azzimonti JC. The agreement between two diagnostic methods in binary cases: a proposal. *Scan J Clin Lab Invest*. 2002;65(2):391-8. <http://dx.doi.org/10.1080/00365510260296555>
5. Thrusfield M. *Veterinary epidemiology*. 3a. ed. London: Blackwell Science; 2007.
6. Petrie A, Watson P. *Statistics for veterinary and animal science*. 2a. ed. London: Blackwell Publishing; 2006.
7. Gardner I, Greiner M. *Advanced methods for test validation and interpretation in veterinary medicine*. *Proceeding of First International Course on advanced methods for test validation and interpretation*; 1999 Jan 20-22; Berlin, Germany.
8. Azzimonti JC. Failures of common measures of agreement in medicine and the need for a better tool: Feinstein's paradoxes and the dual vision method. *Scan J Clin Lab Invest*. 2003;63(3):207-16. <http://dx.doi.org/10.1080/00365510310001221>
9. Siegel S, Castellán NJ. *Estadística no paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta*. México: Trillas; 2003.
10. Dohoo I, Martin W, Stryhn H. *Veterinary epidemiologic research*. Charlottetown, Prince Edward Island: AVC Inc; 2003.
11. Demestre LE. *Manual para la construcción de tablas de contingencia. Modelo, investigación y análisis*. Bloomington: Palibrio; 2014.
12. Nielsen K, Smith P, Gall D, Pérez B, Cosma C, Mueller P, et al. Development and validation of an indirect enzyme immunoassay for detection of antibody to *Brucella abortus* in milk. *Vet Microbiol*. 1996;52(1):165-73. [http://dx.doi.org/10.1016/0378-1135\(96\)00059-4](http://dx.doi.org/10.1016/0378-1135(96)00059-4)

13. Medall. Algorithms for medicine, Release 10.1. Chapter contributed algorithms. Measures of agreement between two diagnostic methods (Azzimonti, J.C.) 2003. [citado 15.09.15]. Disponible en: <http://www.medall.org/visitor/www/inactive/ch0.aspx>
14. Greiner M, Gardner IA. Epidemiologic issues in the validation of veterinary diagnostic tests. *Prev Vet Med.* 2000;45(1-2):3-22. [http://dx.doi.org/10.1016/S0167-5877\(00\)00114-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0167-5877(00)00114-8)