

Arbejdsplan analyse af data	Ansvarlig	AMK
	Oprettet	04-04-2019
	Side	1 af 11
Projekt: 3891, Velfungerende vaccinationsstrategier i kvægbru-		

Opgørelse af data fra vaccination af køer.

I 2018 er der kørt et forsøg med vaccination af køer mod bovint respiratorisk syncytial virus (BRSV). I det følgende er kort beskrevet, den statistiske opgørelse af data.

Hovedkonklusion

De vigtigste konklusioner af afprøvningen var:

1. At køer, der var vaccineret for BRSV havde en signifikant større stigning i BRSV-antistofindholdet i blodet ($P=0,0004$) end ikke vaccinerede køer. Stigningen for vaccinerede køer var 32-enheder større end for ikke vaccinerede køer.
2. Der var en tendens til at indholdet af BRSV-antistoffer i råmælken var lidt højere hos vaccinerede køer end hos ikke vaccinerede køer. P-værdien ($P=0,09$) stammer fra en model, der ikke inkluderede niveauet af uspecifikke antistoffer.
3. At kalve, der havde fået råmælk fra en vaccineret ko, havde et signifikant højere indhold af BRSV-antistoffer i blodet end kalve, der ikke havde fået mælk fra køer, der ikke var vaccineret ($P<0,0001$). Stigningen var på 22 enheder.
4. At der ikke kunne påvises nogen ændring vedr. dødelighed og behandlinger i kalve der havde fået råmælk fra vaccinerede køer i forhold til kalve der havde fået mælk fra uvaccinerede køer
5. At ved samme Brix-værdi, indeholdt mælken fra ældre køer signifikant mere IgG end mælken fra yngre køer ($P<0,0001$).
6. At kalve med et lavt indhold af IgG i blodet havde en højere dødelighed ($P=0.03$).

Fælles dataredigering/Data eksklusion.

I meget få tilfælde blev fødselsdagen i projektet registreret til en anden dag, end den der var indberettet til Kvægdatabasen. Undtagen i et tilfælde blev der i udregningerne brugt de datoer, der var registreret i projektet, fordi de passede bedst sammen med det registrerede tidspunkt for tildelingen af råmælk. I analyserne blev korrigeret for, om kalvene blev tildelt råmælk mindre end 6 timer fra fødslen eller mere end 6 timer fra fødslen. Grænsen blev sat ud fra biologisk baggrundsviden og fordi afstanden fra fødsel til tildeling naturligt delte sig i 2 grupper før og efter 6 timer. I den statistiske analyse blev ikke korrigeret for råmælksmængden, da stort set alle kalve have fået tildelt 2,5 l råmælk.

Sygdomskoderne var inddelt i følgende grupper:

- Kode 28 og 51: Tarmbetændelse.
- Kode 41: Lungebetændelse

Sygdomsbehandlingerne blev opgjort i 2 grupper:

- Tidlige sygdomsbehandlinger – alle sygdomsbehandlinger til og med dag 14
- Sene sygdomsbehandlinger – alle sygdomsbehandlinger fra dag 15 til og med dag 42

Ofte behandles kalvene gentagne gange for samme sygdomme. Ud fra den medicin, der blev brugt, blev graden af sygdommen fastlagt, som summen af antallet af "døgn"-doser. Kalven skulle minimum have været i besætningen henholdsvis 0-14 dage eller 15-42 dage, for at den indgik i opgørelserne af sygdomme. Da der blandt de døde kalve vil være forholdsvis mange, der er syge, vil dette krav sandsynligvis medføre en undervurdering af det samlede sygdomstryk.

En død eller aflivet kalv blev regnet som en død kalv. Kalve der døde inden 14 dage blev betegnet som tidlig død, mens kalve døde inden dag 42 blev **betegnet** som sen død. NB. vær opmærksom på, at dette tal også inkluderer de tidligt døde.

For en ko indgik i de statistiske analyser var der følgende krav:

- Koen måtte ikke have haft en abort (2 køer)
- En enkelt ko med over 1000 OD i mælkeantistoffer indgik ikke.
- Brix-værdien i mælk måtte ikke være over 35
- IgG i mælk måtte ikke være over 200 i IgG titerværdi

Som tjek blev der dog i nogle af figurerne/gennemsnittene og modellerne også inkluderet køer, der ikke opfyldte de 2 sidste krav, da der her ikke var tale om helt klare outliers.

For en kalv indgik i den statistiske analyse, skulle den have fået mælk fra en ko, der opfyldte ovennævnte krav, lige som en enkelt kalv med en brix-værdi over 12 ikke blev medtaget. Igen indgik "alle" kalvene som tjek i nogle af figurerne/gennemsnittene og modellerne.

Statistisk analyse:

De model, der er brugt til at teste de enkelte hypoteser, er simpelt opskrevet i appendiks 1. Modellerne er reduceret ved baglænsselektion ($P=0,05$). Den forklarende variabel af primær interesse blev dog normalt bibeholdt i modellen. Alle modeller blev tjekket med residualplot. I forvejen var det anbefalet at logaritmetransformere OD-værdier. Ud fra residualplottene blev det valgt ikke at gøre det, da data så ud til at være nogenlunde normalt fordelt uden en transformation og en logaritme-transformering i givet fald ville bevirke, at data ikke var normalt fordelt.

Mælken fra den samme ko blev nogle gange tildelt til mere end en kalv, og det bør man tage hensyn til i den statistiske analyse af vaccination på kalvens antistofniveau og produktion. Da det kun skete i begrænset omfang, er det valgt at tage hensyn til det ved kun at bruge resultatet fra en tilfældigt udvalgt kalv per ko. Det blev tjekket, om man fik det samme ved at bruge alle kalve eller ved at analysere resultaterne fra køer med flere kalve i en mixed model, og det gav nogenlunde de samme resultater.

Resultater

Alle resultaterne af de statistiske analyser er samlet i filen [prove.pdf](#). I det følgende vil de vigtigste resultater blive omtalt. Resultaterne er opdelt efter de hypoteser, som blev opstillet før den statistiske analyse.

Problemstilling 1. Hvad har betydning for indholdet af BRSV-antistoffer i den første blodprøve af køerne ved goldning.

Her blev tjekket betydningen af faktorer som koens alder, paritet og hvilken uge prøven er taget i på indholdet af specifikke BRSV-antistoffer ved goldning. Der var ingen signifikante effekter, ligesom der ikke kunne påvises nogen forskel i niveauet af antistoffer mellem den vaccinerede og ikke vaccinerede gruppe ($P=0,36$ resultat ikke vist).

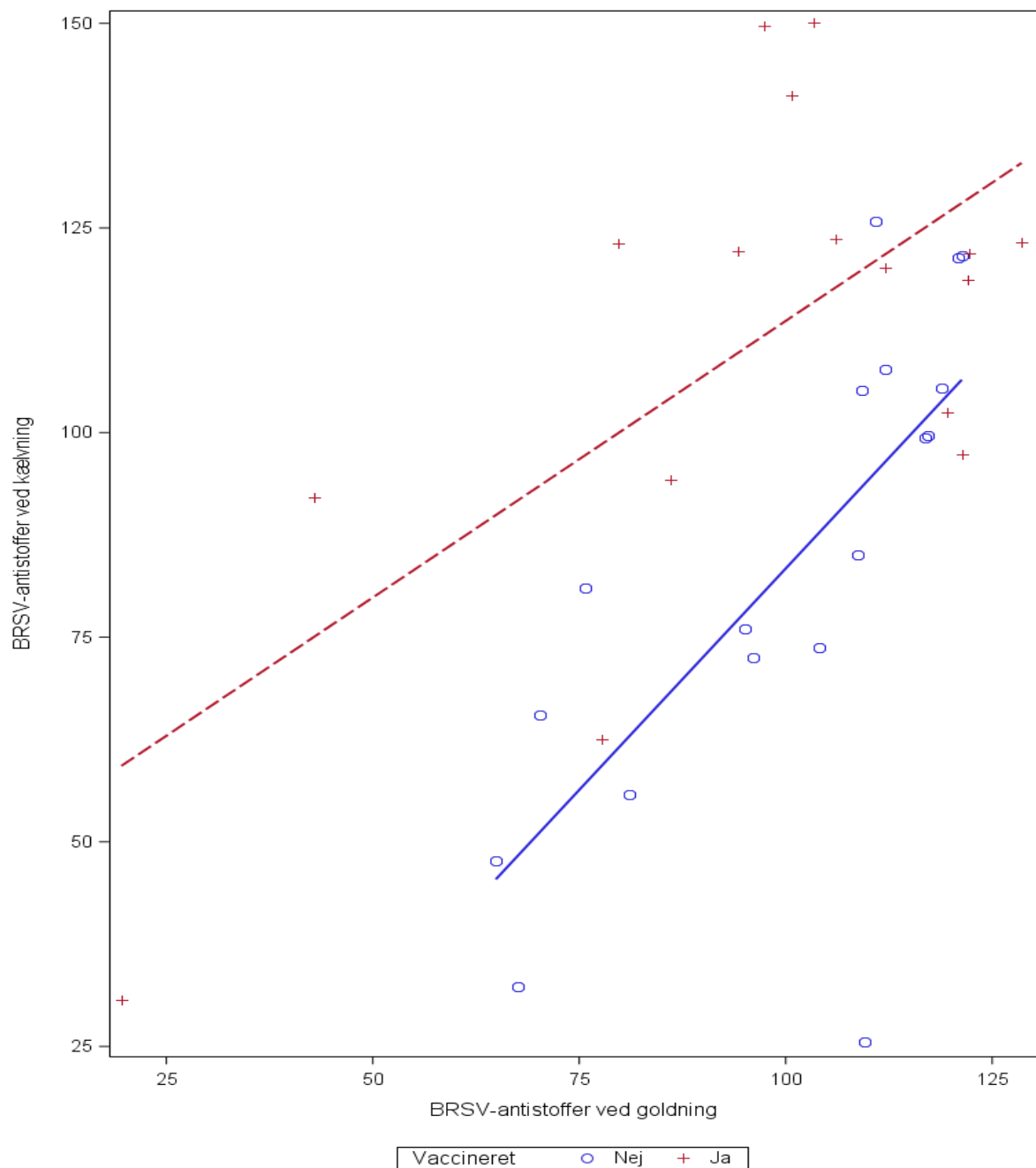
Problemstilling 2. Påvirker vaccination indholdet af antistoffer i en blodprøve taget ca. en uge efter kælvning.

Ændringen i antistofindholdet i blodet fra den første til den anden blodprøve blev analyseret, som funktion af, om koen er vaccineret eller ikke på ca. 30 køer (15 vaccinerede og 15 ikke-vaccinerede) (model A). Analysen foregik både med og uden resultatet fra en ko, som havde en antistofværdi, som faldt med over 80. Resultaterne var nogenlunde enslydende.

Tabel 2.1. Resultater fra model for ændringen af antistof-indholdet i blodet afhængig af om køerne er vaccineret eller ikke. P-værdi og mindste kvadrats gennemsnit fra model med alle køer. Effekten af vaccination (VAR6) var signifikant $P=0,0004$. Forskellen var 32 OD enheder.

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
VAR6	1	8461.141871	8461.141871	15.44	0.0004

VAR6	dif blod LSMEAN	95% Confidence Limits	
Ja	14.996250	3.075723	26.916777
Nej	-16.608889	-27.847670	-5.370108



Figur 2.1. Sammenhængen mellem BRSV-antistoffer ved goldning og kælvning afhængig af om koen er vaccineret eller ikke. Ved samme antistof niveau før ligger de vaccinerede på et tydeligt højere niveau.

Problemstilling 3. Påvirker vaccination indholdet af antistoffer i råmælken?

Der var råmælksresultater for 22 % af de vaccinerede køer og 27 % af de ikke vaccinerede køer. Interessen var her om brix-værdien, indholdet af Ig generelt og af BRSV-antistoffer i råmælken var afhængig af, om koen var vaccineret eller ikke. Brix-værdierne af råmælken var ikke signifikant påvirket af, om koen var vaccineret eller ikke (model A, $P=0,26$). Det samme var tilfældet for indholdet af IgG i råmælken (model A, $P=0,41$). Der var derimod en tendens til at indholdet af BRSV-antistoffer var lidt højere hos vaccinerede køer end hos ikke vaccinerede køer i en model, der ikke inkluderede niveauet af total IgG (model A, $P=0,09$) og en lille signifikant effekt af vaccination i en model, der inkluderer indholdet af total IgG (model B, $P=0,035$).

Tabel 3.1. P-værdier og model estimater fra model for BRSV-antistoffer i råmælk, hvor der er korrigeret for indholdet af IgG. Ca. 16 højere ELISA-værdi for vaccinerede i forhold til ikke vaccinerede og negativ sammenhæng mellem indholdet af IgG i råmælken og indholdet af BRSV-antistoffer.

Source	DF	Type II SS	Mean Square	F Value	Pr > F
VAR6	1	4637.76634	4637.76634	4.63	0.0350
IgG_maelk	1	11641.67148	11641.67148	11.61	0.0011

Parameter	Estimate		Standard Error	t Value	Pr > t
Intercept	142.3832291	B	9.71068005	14.66	<.0001
VAR6 Ja	16.4375000	B	7.64220219	2.15	0.0350
VAR6 Nej	0.0000000	B			
IgG_maelk	-0.3952912		0.11599697	-3.41	0.0011

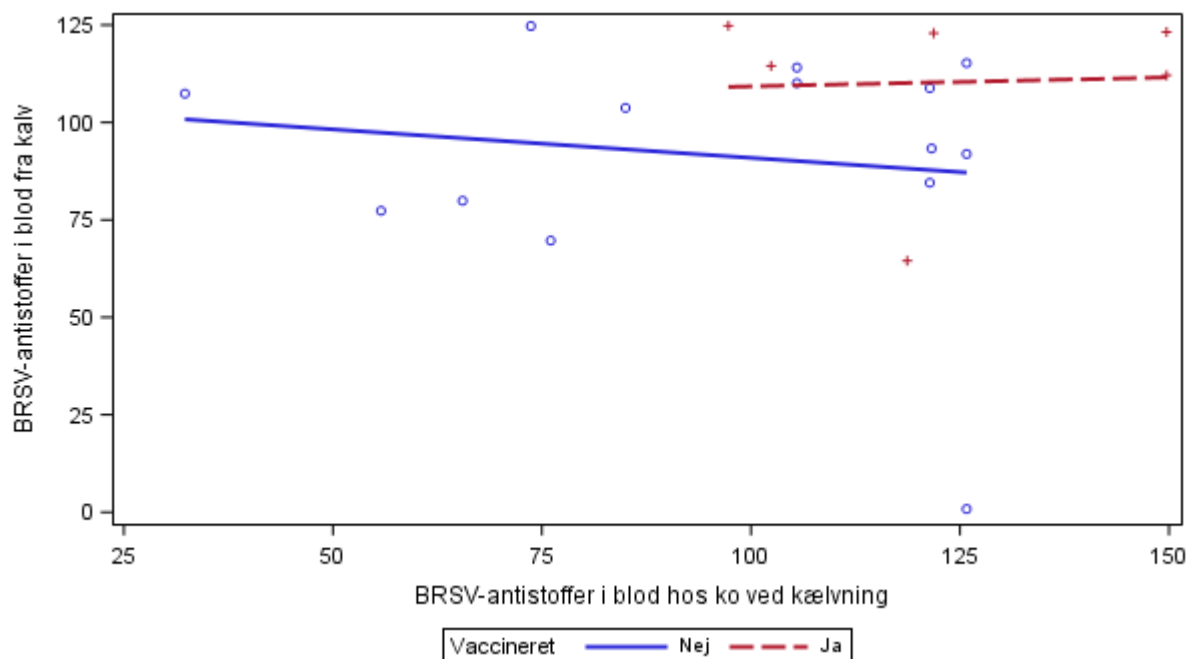
Problemstilling 4. Påvirker fodring med råmælk fra vaccinerede køer indholdet af antistoffer i kalvens blod taget den første uge (1-10 dage) efter fødsel.

Kalve, der have fået mælk fra vaccinerede køer have et signifikant højere indhold af BRSV-antistoffer i blodet end kalve, der havde fået mælk fra køer, der ikke var vaccineret (model C, $P<0,0001$). Der indgik i alt 98 kalv i analysen og råmælk fra 76 køer. De 98 kalve i analysen fordelte sig med hhv. 57 kalve der ikke havde fået råmælk fra vaccineret køer og 41 kalve der havde fået råmælk fra vaccineret køer. Det ændrede ikke på dette resultat, hvis vi inkluderede kalvenes generelle IgG-niveau i modellen (model D) eller de kalve med ufuldstændige oplysninger om råmælkstildeling. Hvilket var forventeligt, da IgG niveauet i kalvene ikke var forskellig for de to grupper ($P=0,41$ og 6-enhedsforskelle højere i vaccineret gruppe). I figur 4.1 er vist sammenhængen mellem BRSV-antistoffer i blodet hos kalven og indholdet af BRSV-antistoffer i råmælken og i blodet fra den ko, som kalven havde fået råmælk fra, opdelt efter om koen var vaccineret eller ikke. Der var ingen signifikant indflydelse på kalvens indhold af BRSV-antistoffer i blodet, af hverken koncentrationen af BRSV-antistoffer i råmælken eller indholdet af BRSV-antistoffer i blodet hos den ko, som kalven havde fået råmælk fra (Model E). Det skal bemærkes, at det kun er meget få køer, der er blodprøvet ved kælvning, og hvor vi også har blodprøve af de kalve, der har fået råmælk fra disse køer.

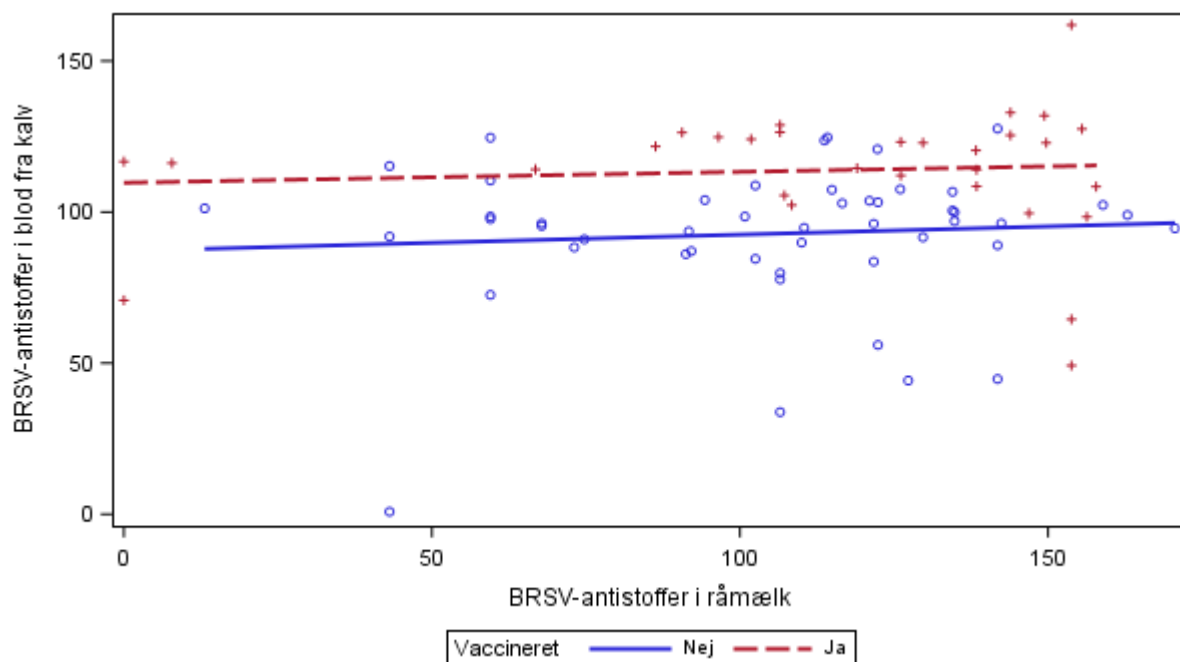
Tabel 4.1. Resultater af model for antistof-indholdet i blodet hos kalvene afhængig af, om de fik råmælk fra en vaccineret ko eller en ikke-vaccineret ko. P-værdier og mindste kvadrats gennemsnit. Resultater fra model, hvor der kun er medtaget en tilfældigt udvalgt kalv pr. ko (se afsnit om statistiske analyser). Effekten af vaccination (VAR6) var signifikant $P<0,0001$ og forskellen var på 22.

Source	DF	Type II SS	Mean Square	F Value	Pr > F
VAR6	1	9156.640391	9156.640391	29.87	<.0001

VAR6	Elisa1 LSMEAN	95% Confidence Limits	
Ja	115.914286	110.017674	121.810897
Nej	93.892683	88.444588	99.340777

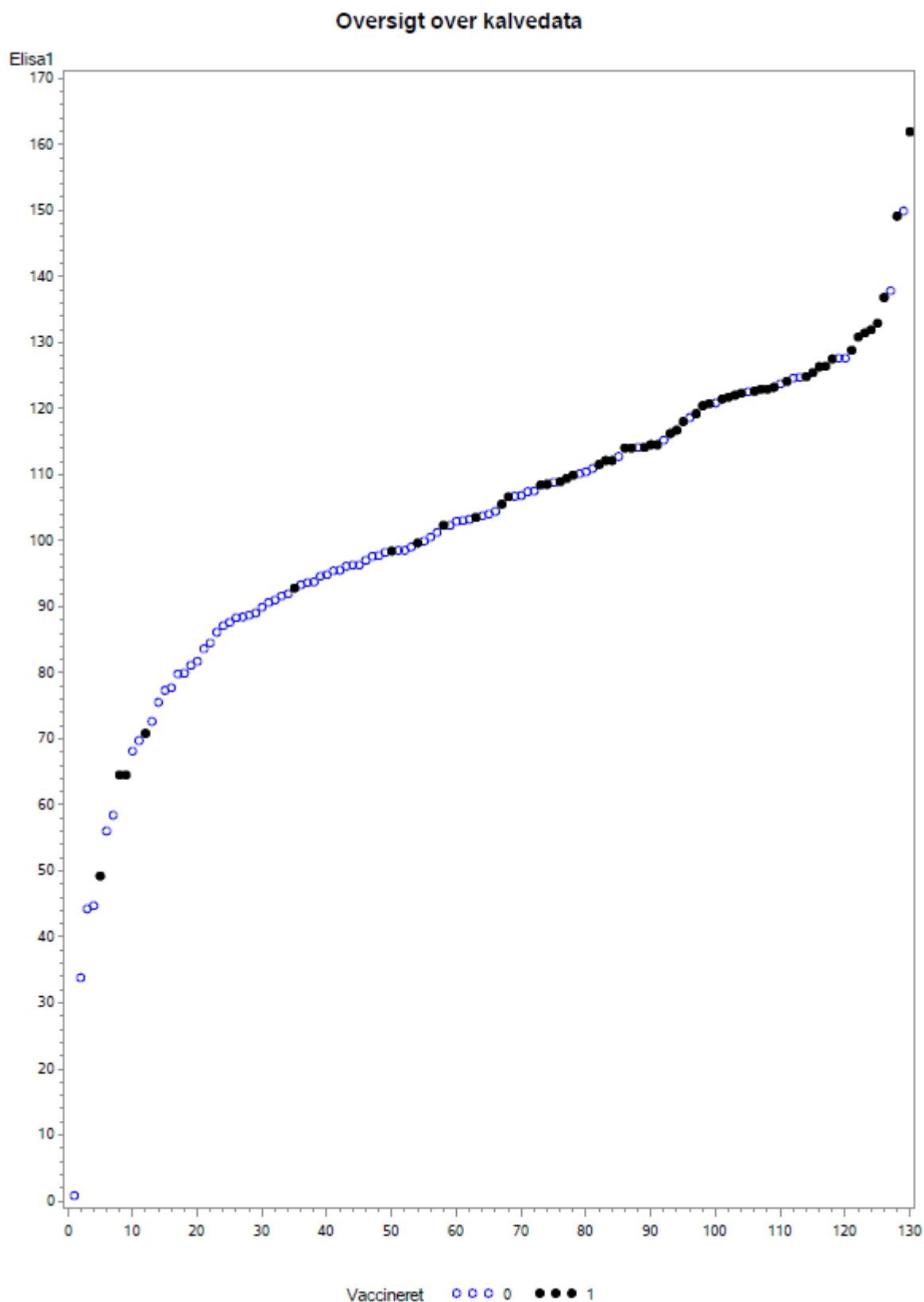


Figur 4.1.A. BRSV-antistoffer i blodet hos kalven og indhold af BRSV-antistoffer i blodet på den ko, som kalven har fået råmælk fra, opdelt efter om koen er vaccineret eller ikke.



Figur 4.1.B. BRSV-antistoffer i blodet hos kalven og indhold af BRSV-antistoffer i råmælken fra den ko, som kalven har fået råmælk fra, opdelt efter om koen er vaccineret eller ikke.

Som det fremgår af figur 4.2 havde få kalve nul eller tæt på nul antistoffer mod BRSV og cirka 30 % havde under 94 i titerværdi for specifikke BRSV antistoffer, hvor hovedparten var kalve der var fodret med råmælk fra ikke-vaccineret køer.



Figur 4.2. Specifik antistof titerværdi målet indenfor en uge efter fødsel hos kalve foderet med råmælk fra vaccineret køer (blå åbne dots) og fra ikke vaccineret køer (sorte lukket dots). Kalvene er plottet efter stigende titerværdi. Ud af x-aksen er vist antallet af kalve.

Problemstilling 5. Indholdet i råmælken og indhold i blodet hos kalve afhængig af laktationsnummer hos køerne

Tabel 5.1. Der blev ikke fundet forskel mellem indholdet af specifikke antistoffer i råmælk fra kvier (ikke-vaccinerede) henholdsvis ældre ikke vaccinerede køer. Der blev heller ikke fundet forskel på indholdet af specifikke antistoffer i serum fra kalve der havde modtaget råmælk fra kvier (ikke-vaccinerede) henholdsvis ældre ikke vaccinerede køer.

Paritet, af ko	Antal kalve	Variable	N	Mean
0	37	BRSV_elisa i råmælk	19	101.4147368
		Elisa1	23	101.9304348
		logELisa1	23	2.0012083
		IgG_serum1	23	25.0862678
		Brix_serum1	23	8.7130435
1. kalvs	27	BRSV_elisa i råmælk	19	129.8789474
		Elisa1	26	94.1038462
		logELisa1	26	1.9602526
		IgG_serum1	25	23.7878318
		Brix_serum1	25	8.7000000
2. kalvs	14	BRSV_elisa i råmælk	9	111.4555556
		Elisa1	14	94.7714286
		logELisa1	14	1.9643975
		IgG_serum1	14	30.0766424
		Brix_serum1	14	8.9571429
Øvrige	43	BRSV_elisa i råmælk	27	93.1703704
		Elisa1	40	95.7175000
		logELisa1	40	1.9304881
		IgG_serum1	40	25.4935956
		Brix_serum1	40	8.9925000

Problemstilling 6. Påvirker vaccination kalvens modtagelighed over for sygdomme.

I tabel 6.1 er vist sygdomsbehandlinger og dødelighed afhængig af, om kalven havde fået råmælk fra en vaccineret ko eller ikke. Ud fra tabellen ser der ikke ud til at være nogen som helst effekt af vaccination på parametrene, og der kunne heller ikke påvises nogen effekt af vaccination ved en hurtig statistisk analyse (model F).

Tabel 6.1. Sygdoms behandlinger i dag 1-14 og dag 15-42, dødelighed samlet og i dag 0-14 og i dag 0-42, opdelt efter om kalven havde fået råmælk fra en vaccineret ko eller ikke.

Vaccineret	N Obs	Variable	Label	N	Mean	Std Dev	Minimum	Maximum
Nej	81	Tidlig_tarmbet		76	6.5526316	4.0311942	0	16.0000000
		Tidlig_lungebe		76	0	0	0	0
		Sen_tarmbet		74	0.7162162	1.9054376	0	8.0000000
		Sen_lungebe		74	1.0540541	3.0380775	0	18.0000000
		doed	Død	81	0.1358025	0.3447132	0	1.0000000
		doedtidlig	Død inden 14 dage	81	0.0617284	0.2421611	0	1.0000000
		doedsen	Død inden 42 dage	81	0.0864198	0.2827336	0	1.0000000
Ja	54	Tidlig_tarmbet		48	6.0625000	3.5032280	0	16.0000000
		Tidlig_lungebe		48	0.1250000	0.8660254	0	6.0000000
		Sen_tarmbet		47	0.5744681	1.8147306	0	8.0000000
		Sen_lungebe		47	0.5531915	1.8510691	0	8.0000000
		doed	Død	54	0.1481481	0.3585825	0	1.0000000
		doedtidlig	Død inden 14 dage	54	0.1111111	0.3172206	0	1.0000000
		doedsen	Død inden 42 dage	54	0.1296296	0.3390495	0	1.0000000

I forbindelse med analyserne blev det prøvet at inddrage IgG, som kovariat, og i en COX-regression var effekten af IgG i kalvens blod på kalvenes overlevelse indtil 14 dage signifikant (Model G, $P=0,03$), ligesom der var en kraftig tendens til, at dødeligheden inden dag 42 var afhængig af niveauet af IgG i kalvenes blod (Model G, $P=0,07$). Det kunne se ud til, at det især er kalve med forholdsvis lave IgG-niveauer, der har en høj dødelighed, se tabel 6.2.

Tabel 6.2. Dødelighed frem til d. 1. april 2019 (doed), dødelighed i dag 0-14 (doedtidlig) og i dag 0-42 (doedsen), opdelt efter IgG-niveauet i kalvens blod.

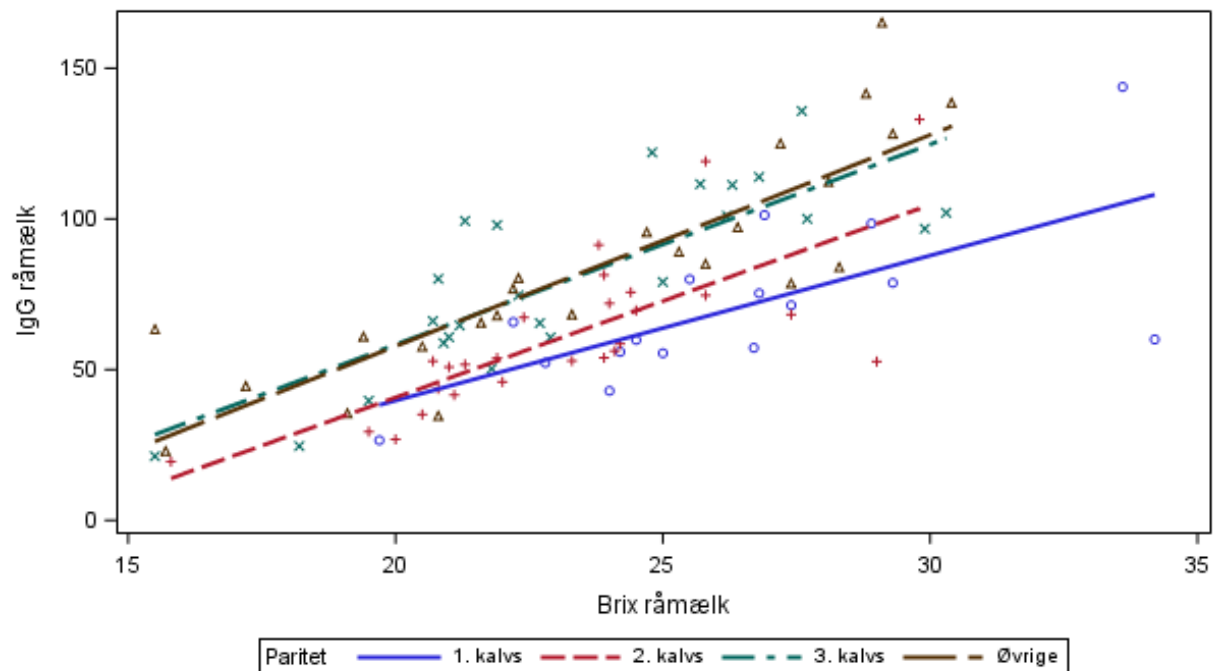
IgG_serum1	N Obs	Variable	Label	N	Mean
3.7_ 18.6	29	doed	Død	29	0.2413793
		doedsen	Død inden 42 dage	29	0.1379310
		doedtidlig	Død inden 14 dage	29	0.0689655
18.6_ 24.4	29	doed	Død	29	0.0689655
		doedsen	Død inden 42 dage	29	0.0689655
		doedtidlig	Død inden 14 dage	29	0.0689655
24.4_ 33.4	29	doed	Død	29	0.0689655
		doedsen	Død inden 42 dage	29	0.0344828
		doedtidlig	Død inden 14 dage	29	0
33.4_ 51.2	28	doed	Død	28	0.0714286
		doedsen	Død inden 42 dage	28	0.0714286
		doedtidlig	Død inden 14 dage	28	0.0714286

Andre analyser

Ud over disse analyser blev der også lavet en del andre analyser.

1. Sammenhængen mellem Brix og IgG i råmælken begge målt i laboratoriet. Her så der ud til at være en nogenlunde sammenhæng. R^2 for en ren lineær model var på 0,6, hvis alle observationer var med, men "kun" på 0,51, hvis de afvigende observationer ikke var med. Sammenhængen var dog signifikant påvirket af laktation ($P<0,0001$, model H). Således at ved samme Brix værdi havde råmælk fra kvier og 1. kalvs en lavere IgG-værdi end råmælk fra de ældre køer. Det er statistiske analyse, viste ingen forskel på hældningen, men niveauforskellen er på 19 for 2.

kalvs kører og på 30 for 1. kalvs kører i forhold til 3. og 4. kalvs kører (se figur nedenfor).



2. Sammenhæng mellem Brix målt i stalden og Brix-værdien fra laboratoriet af råmælk. God sammenhæng $R^2=0,75$, men lille niveau forskydning.
3. Sammenhæng mellem Brix og IgG i serum på kalvene begge målt på laboratorie (model I). R^2 var 0,71 og sammenhængen var nogenlunde lineær og ikke påvirket af kalvens alder ved blodprøve.

Arkivering

Programmer, datasæt og rapport ligger under:

U:\KvaegSASpc\DataGruppe\AMK\Indsaetter

Til analyserne er brugt følgende datasæt:

Anakalv20190401 og anakoer20190401

Af hensyn til dokumentation er datasæt og programmer kopieret ud på:

T:\2018\150_ HusdyrInno\3891-Velfungernde-vaccinationsstrategier-i-kvaegbruget\1-Arbejdsmappe\Statistik\

Appendiks 1.

Model A:

Respons= Vaccineret (ja/nej) + Laktation på goldningstidspunktet (1. kalvs, 2. kalvs og øvrige) + tidspunkt for goldning + vaccination*tidspunkt for goldning.

Model B:

Respons= Vaccineret (ja/nej) + Laktation på goldningstidspunktet (1. kalvs, 2. kalvs og øvrige) + Tidspunkt for goldning + Vaccination*Tidspunkt for goldning + Indholdet af uspecifikke antistoffer (linjer effekt af IgG).

Model C:

Respons= Vaccineret (ja/nej) + Laktation på goldningstidspunktet af ko (1. kalvs, 2. kalvs og øvrige) + Tidspunkt for råmælkstildeling af kalv (før 6 timer, efter 6 timer)

Model D:

Respons= Vaccineret (ja/nej) + Laktation på goldningstidspunktet af ko (1. kalvs, 2. kalvs og øvrige) + Tidspunkt for råmælkstildeling af kalv (før 6 timer, efter 6 timer) + Indholdet af IgG + indholdet af IgG*Vaccineret

Model E:

Respons= Vaccineret (ja/nej) + Laktation på goldningstidspunktet af ko (1. kalvs, 2. kalvs og øvrige) + Tidspunkt for råmælkstildeling af kalv (før 6 timer, efter 6 timer) + Indholdet af BRSV-antistoffer i henholdsvis blod og mælk hos koen + Indholdet af BRSV-antistoffer i henholdsvis blod og mælk hos koen *Tidspunkt for råmælk

Model F:

Respons= Vaccineret (ja/nej) + Laktation på goldningstidspunktet af ko (1. kalvs, 2. kalvs og øvrige) + Tidspunkt for råmælkstildeling af kalv (før 6 timer, efter 6 timer) + Fødselsmåned

Responset blev her enten analyseret som logaritmen til antallet af døgndoser +0.9, som antallet af døgn doser, hvor der blev antaget, at antallet var poisson-fordelt og som logit til om kalven var behandlet eller ikke eller om kalven var død eller ikke.

Model G:

Respons= Laktation på goldningstidspunktet af ko (1. kalvs, 2. kalvs og øvrige) + Tidspunkt for råmælkstildeling af kalv (før 6 timer, efter 6 timer) + Indholdet af IgG +Brix-værdi af råmælk + indholdet af BRSV-antistoffer +Fødselsmåned + Alder ved blodprøve

Model H:

Respons= Laktation på goldningstidspunktet af ko (1. kalvs, 2. kalvs og øvrige) + Anden grads polynomie af Brix-værdi henholdsvis indholdet af IgG + I Brix-værdi henholdsvis indholdet af IgG *Laktation på goldningstidspunktet

Model I:

Respons= Alder ved blodprøve + Anden grads polynomie af Brix-værdi henholdsvis indholdet af IgG + I Brix-værdi henholdsvis indholdet af IgG*Alder ved blodprøve

FORTROLIGT