

動物用疫苗試驗的 常用統計分析

楊平政

7/19/2024

大綱

- 目的
- 選用統計方法的考量因素
- 練習
- 總結

目的

- 簡介應用正確的生物統計方法，分析動物用疫苗試驗數據

動物用疫苗試驗常用的試驗設計

- 完全隨機設計(COMPLETELY RANDOMIZED DESIGN, CRD)
- 完全隨機區集設計(RANDOMIZED COMPLETE BLOCK DESIGN, RCBD): 最常區集的變數 - 體重

完全隨機區集設計(RCBD)舉例

- 已有科學證據顯示，豬隻試驗時，開始體重較重的豬，結束時的增重會較多
- 10隻豬的體重（公斤）：10, 10, 10, 10, 9, 9, 9, 8.5, 8, 8

完全隨機區集設計(RCBD)舉例

- **CRD兩組**：有可能全部或多數較重的豬都在同一組
- **RCBD**：將豬隻按體重由高至低排列，每兩隻豬為一個區集，隨機分入兩組，共有5個區集，可以去除體重的影響
- **免疫組**：10, 10, 9, 8.5, 8
- **對照組**：10, 10, 9, 9, 8

影響動物用疫苗試驗統計分析方法的因子

- 試驗數據是否常態分布
- 試驗數據(變數)的型態
- 樣本數的大小

試驗數據是否常態分布

- Parametric statistics (母數統計方法)的基本假設是試驗數據呈"常態分布"
- 母數統計方法: 如 t-test, ANOVA (F-test)
- 不是常態分布的試驗數據, 可以用上述統計方法嗎?
- 當然不行

試驗數據（變數）的型態

- 連續型變數
- 類別型變數
- 二項分布變數

連續型變數(Variable)

1. 可以客觀量取的連續型變數
2. 由試驗者定義的排序型變數

可以客觀量取的連續型變數

- 體重, 體溫, 飼料量, 飲水量, ...
- 抗體力價, 病毒力價, 細菌力價 ?

可以客觀量取的連續型變數適用的統計方法

基本假設

- 樣本源自常態分布的族群，且數據呈常態分布
- 樣本隨機取得
- 大樣本($n \geq 30$ 趨近於常態分布)

可以客觀量取的連續型變數適用的統計方法

- 隨機自常態分布族群取得的大樣本($n \geq 30$)試驗，適合使用下列**Parametric statistics (母數統計方法)**
- t-test：僅限於兩組的試驗 (免疫組 vs 不免疫對照組)
- ANOVA (F-test)：超過兩組的試驗 (2免疫組+不免疫對照組)，(免疫組+**陰性對照組**+**陽性對照組**)，...

攻毒試驗有時需要設置兩對照組

- 陰性對照組：不攻毒，控制試驗環境，試驗動物在試驗過程中保持健康不發病
- 陽性對照組：攻毒，控制接種的病原，試驗動物一定要發生所接種病原引起的特定疾病（症狀，病變，回收病原，核酸）

以力價呈現的數據（抗體，病毒，細菌）

- 原始數據常以2或5或10的倍數呈現
- 不是常態分布
- 不可以直接計算算術平均值
- 更不可以直接用原始數據進行統計分析

抗體力價, 病毒力價, 細菌力價等數據的 正確呈現與統計分析

- 力價類數據不是常態分布; 但可透過轉換程序, 將數據變為常態分布
- 力價必須先經過Log轉換(Log2, Log5, Log10,...)
- 計算幾何平均值
- 用Log轉換完成的數據進行統計分析(t-test or F-test)

樣本數的大小

動物用疫苗的動物試驗：

- 實驗室試驗：通常是小樣本($n < 30$)試驗
- 田間試驗：一定是大樣本($n > 30$)試驗

小樣本($n < 30$)試驗不可以用t-test or F-test

- 樣本數小, 不符合常態分布的假設！
- 要用Nonparametric statistics (無母數統計方法)

常用的無母數(Nonparametric)統計方法

- Mann-Whitney U test : 兩組
- Kruskal-Wallis test : 超過兩組



排序型變數的統計分析



由試驗者定義的排序型變數

- 下痢指數：正常(0), 軟便(1), 輕瀉(2), 糊狀(3), 水瀉(4)
- 厭食指數：正常(0), 輕度厭食(1), 中度厭食(2), 食慾廢絕(3)
- 症狀(呼吸, 皮膚, 行動, ...)指數：正常(0), 輕度(1), 中度(2), 重度(3)
- 其他

排序型變數

- 變數的數值因人而異(主觀認定)
- 不是常態分布

排序型變數的統計分析

Nonparametric statistics (無母數統計方法)

常用：

- Mann-Whitney U test：兩組
- Kruskal-Wallis test：超過兩組

Nonparametric statistics (無母數統計方法)

適用於下列試驗數據

- 不是常態分布
- 不知族群分布
- 小樣本($n < 30$)

類別型變數的統計分析

類別型變數

- 例. PED疫苗攻毒試驗：比較免疫組與對照組間之臨床症狀，分成：無症狀，只有下痢，下痢+嘔吐
- 卡方檢定 (Chi-square test)

類別型變數

- 例. PCV2疫苗攻毒試驗：試驗結束時比較免疫組與對照組間之肺炎病變區大小，分成4類：正常，輕微，中度，嚴重
- 卡方檢定 (Chi-square test)

類別型變數

- 例. 疫苗田間試驗：試驗結束時比較免疫組與對照組間之育成率（或死亡率），分成2類：存活，死亡，或3類：存活，淘汰，死亡
- 卡方檢定 (Chi-square test)

二項分布變數的統計分析

變數的呈現：是 VS 否

- 存活 vs 死亡
- 健康 vs 下痢
- 無病 vs 有病
- 無症狀 vs 有症狀
- 上市頭數 vs 死亡淘汰頭數

二項分布變數的統計分析方法

- 卡方檢定 (Chi-square test)
- 費雪精確檢定 (Fisher's exact test)
- EpiinfoTM

費雪精確檢定(Fisher's exact test) 的應用時機

- 只適用**2 X 2**的卡方檢定數據
- 當至少有一個觀察值 <5 時，卡方檢定不準，**應改用費雪精確檢定**

例. 免疫後的攻毒試驗, 免疫組存活(9活1死),
對照組存活(4活6死)

- Chi-square test P值= 0.0191 (差異顯著)
- Fisher's exact test P值= 0.0296 (差異顯著)

例. 免疫後的攻毒試驗， 免疫組存活(10活0死)，
對照組存活(5活5死)

- Chi-square test P值= 0.0098 (差異極顯著)
- Fisher's exact test P值= 0.0162 (差異顯著)

例. 免疫後的攻毒試驗, 免疫組(2病8健),
對照組10隻動物 (1隻意外死亡, 6病3健)

- Chi-square test P值= 0.0397 (差異顯著)
- Fisher's exact test P值= 0.0549 (差異不顯著)

P值的判讀

- $P > 0.05$: 差異未達統計學顯著程度，NS
- $P < 0.05$ or $P = 0.037$, *
- 差異顯著(免疫組的增重顯著的高於對照組)
- $P < 0.01$ or $P = 0.008$, **
- 差異極顯著(免疫組的育成率極顯著的高於對照組)

練習

Q1. $n=40$ ，平均隨機分配為免疫組或不免疫對照組，
比較兩組下列參數，各需應用那種統計方法分析？

- 體重變化
- 中和抗體力價高低
- 死亡率高低

Q2. $n=24$ ，平均隨機分配為免疫組或不免疫對照組，比較兩組下列參數，各需應用那種統計方法分析？

- 體重變化
- 中和抗體力價高低
- 存活率高低

Q3. PED疫苗攻毒試驗， $n=45$ ，平均隨機分配至3組，比較下列參數，各需應用那種統計方法分析？

- 體重變化
- 血中病毒力價高低
- 下痢與否頻率高低

Q4. $n=24$ ，平均隨機分配至3組，比較下列參數，
各需應用那種統計方法分析？

- 體重變化
- 中和抗體力價高低
- 肺臟病變區域大小

Q5. 田間試驗：試驗結束時比較免疫組(100隻)與對照組(100隻)間之存活率、淘汰率與死亡率，統計方法？

組別	存活數	淘汰數	死亡數
免疫組	90	5	5
對照組	80	8	12

Q6. 田間試驗：試驗結束時比較免疫組(100隻)與對照組(100隻)間之存活率、淘汰率與死亡率，統計方法？

組別	存活數	淘汰數	死亡數
免疫組	93	4	3
對照組	80	8	12

Q1. $n=40$ ，平均隨機分配為免疫組或不免疫對照組，比較兩組下列參數，各需應用那種統計方法分析？

- 體重變化：t-test
- 中和抗體力價高低：先以Log轉換數據，再用t-test
- 死亡率高低：卡方檢定，如至少有一格數值小於5，則用Fisher's exact test

Q2. $n=24$ ，平均隨機分配為免疫組或不免疫對照組，比較兩組下列參數，各需應用那種統計方法分析？

- 體重變化：Mann-Whitney U test
- 中和抗體力價高低：先以Log轉換數據，再用Mann-Whitney U test
- 存活率高低：卡方檢定，如至少有一格數值小於5，則用Fisher's exact test

Q3. PED疫苗攻毒試驗， $n=45$ ，平均隨機分配至3組，
比較下列參數，各需應用那種統計方法分析？

- 體重變化：ANOVA (F-test)
- 血中病毒力價高低：先以Log轉換數據，再用ANOVA (F-test)
- 下痢與否頻率高低：卡方檢定？

Q3. 下痢與否頻率高低：卡方檢定？

- <5 的觀察值不可超過 20% (3x2 卡方檢定)，只有一格數值 <5 ，可用卡方檢定
- 如果有 2 格以上數值 <5 ？
 - 合併 2 免疫組的數據，變成 2x2 卡方檢定
- 設計試驗時就應考慮周延

Q4. $n=24$, 平均隨機分配至3組，比較下列參數，
各需應用那種統計方法分析？

- 體重變化：Kruskal-Wallis test
- 中和抗體力價高低：先以Log轉換數據，再用Kruskal-Wallis test
- 肺臟病變區域大小(分4類)：卡方檢定？
- 肺臟病變區域(量面積)：Kruskal-Wallis test

Q5. 田間試驗：試驗結束時比較免疫組(100隻)與對照組(100隻)間之存活率、淘汰率與死亡率，統計方法？

組別	存活數	淘汰數	死亡數
免疫組	90	5	5
對照組	80	8	12

• 卡方檢定

Q6. 田間試驗：試驗結束時比較免疫組(100隻)與對照組(100隻)間之存活率、淘汰率與死亡率，統計方法？

組別	存活數	淘汰數	死亡數
免疫組	93	4	3
對照組	80	8	12

Q6解答

2 x 2卡方檢定

合併淘汰數與死亡數為**淘汰死亡數**

組別	存活數	淘汰死亡數
免疫組	93	7
對照組	80	20

合併後如仍有一格數值小於5, 就必須改用**Fisher's exact test**

總結

- 應用Parametric statistics (t-test, F-test)的時機
 - 大樣本: $n \geq 30$
 - 樣本隨機取得
 - 可以客觀量取的連續型變數
- 其餘數據都應使用Nonparametric statistics
 - Mann-Whitney U test
 - Kruskal-Wallis test

總結(續)

- 卡方檢定適用類別型變數與二項分布數據
- 2×2 卡方檢定, 如有一格數值小於5, 就必須改用
Fisher's exact test



謝謝！

Q & A