

Resultatene for gammaglobulin i serum hos spegris, i ulike manus til artikkel 5 i Leon Cantas sin avhandling.

Først; en kort orientering om gamma-globulin i serum hos spegris og andre nyfødte husdyr, og opplegget i dette forsøket i forhold til det:

Gamma-globulin er en elektroforese-fraksjon av serumproteinene i blodet hos mennesker og dyr. Denne fraksjonen inneholder i all hovedsak spesifikke immunproteiner, først og fremst immunoglobulin G (IgG). Hos mennesker blir disse immunproteinene overført gjennom morkaken før fødsel, men hos alle våre husdyr er ikke dette mulig, pga morkakens karakter.

Spedyr av disse artene er derfor avhengige av tilførsel av disse proteinene gjennom råmelk, som de får i seg de første timene etter de er født, for å være beskyttet mot vanlige sjukdomsmikrober i miljøet. Dette gjelder også spegris.

En spegris som ikke har fått råmelk, vil derfor ha en lav gammaglobulin-verdi i serum, i praksis under 1 g pr liter. En spegris som har fått i seg råmelk vil ha en vesentlig høyere gammaglobulin-verdi, på 5-10 g eller høyere.

I det aktuelle forsøket som er beskrevet i artikkel 5, var opplegget at spegrisene ble tatt i mot ved fødsel og satt direkte inn i forsøket, slik at de ikke skulle få i seg råmelk først. Hensikten med dette var å unngå at de var beskyttet mot den sjukdomsframkallende E. coli-varianten de ble gitt i munnen; slik at en kunne se på effekten av infeksjonen og de ulike medikamentelle behandlingene grisene fikk uten forstyrrende effekt av beskyttelse fra immunoglobulinene.

Etter hvert vil normale spedyr begynne å produsere sine egne immun-globuliner, som respons på bakterier, virus og andre smittestoffer de møter i miljøet. Dette tar imidlertid lengre tid; det er snakk om uker snarere enn timer. I løpet av et forsøk som dette; som var begrenset til 24-32 timer, vil en derfor ikke forvente noen vesentlig endring i gamma-globulin-nivå.

Som det framgår av de vedlagte originaltallene, xl-arket («Gamma-reelle tall alle») og tabellene under, viste de reelle tallene fra Sentrallaboratoriet, som forventet, gjennomgående lave gamma-globulinverdier gjennom hele forsøket, for de aller fleste spegrisene. Flertallet lå stabilt under 1 g/liter.

Det er noen unntak: I placebo-gruppa ved tidspunkt B ble det for flere av spegrisene tatt flere prøver, merket f.eks. «1.2.2 A» og «1.2.2 B». Jeg husker ikke den nøyaktige årsaken til det, men tror helst det dreide seg om at Leon Cantas slet litt med blodprøvingsteknikken akkurat da, og fikk den forbedret ved instruksjon fra Tore Framstad. Jeg erindrer at det skjedde, og det kan stemme med tidspunktet i forsøket. For en del av disse prøvene er en eller flere resultater for gammaglobulin uventet høye, mens en annen parallellprøve som forventet er under 1 g pr liter. Og ved tidspunkt C er gamma-globulinverdiene for alle placebo-speggrisene igjen under 1 g pr liter. Siden gammaglobulin ikke kan gå ned igjen på så kort tid (disse proteinene skilles ikke ut over nyrene, og forsvinner først ved nedbryting, som også tar noen uker), så er det overveiende sannsynlig at disse høye verdiene på enkelte parallellprøver er resultat av uheldige forhold ved de aktuelle prøvene, for eksempel pga mye hemolyse eller tilsvarende forhold. Den riktigste beregningsmåten på grunnlag av disse resultatene er derfor å regne disse høye verdiene (uthevet i xl-arket) som feilverdier, og bruke de andre parallellverdier. Dette har jeg i xl-arket kalt «beregning A». For å sikre at alternative beregningsmåter er tatt i betraktning, har jeg imidlertid også gjort en beregning der alle verdiene er tatt med, i xl-arket kalt «beregning B».

Fordi formelen for «host-fold-response» beregningen er AxC/B^2 , og verdiene i figurene er angitt som «host fold response» relativt til placebo, så får tilfeldigvis beregningene for placebo-gruppa ved tidspunkt B stor innflytelse også på beregningen av alle «host-fold»-verdiene, når en går ut fra reelle tall. Derfor har jeg for sikkerhets skyld gjennomført også disse beregningene ut fra begge beregningsmåtene.

Det andre vesentlige unntaket fra det generelle bildet at alle de reelle gamma-globulinverdiene ligger lavt gjennom forsøket er i gruppe 8, der minst tre av grisene viser høyere gamma-globulin-verdier, gjennom hele forsøket. Den mest sannsynlige forklaringen på dette er at det akkurat for disse grisene skjedde en glipp i forhold til planen, så de nyfødte grisungene rakk å komme seg fram til spenen og få i seg noe råmelk før de ble hentet og satt inn i forsøket. - Endelig er det en høy verdi for gris 9.3 ved tidspunkt B (prøve 9.3.2), som mest sannsynlig er et resultat av en feil ved prøven, jfr. diskusjonen over.

Under har jeg først satt opp snitt og SEM-verdier for gamma-globulin, beregnet ut fra de reelle verdiene. Ved siden av har jeg satt opp de verdiene som står i tabellen i «Supplementary material 2» i artikkel 5 i avhandlingen. Som en ser, er det her – i motsetning til tallene for CRP – stort sett ingen stor motsetning mellom de verdiene en får fra de reelle tallene og de Leon Cantas har satt opp i tabellen. Det er imidlertid verdt å merke seg at tabellen til Cantas oppgir snitt og SEM for gruppe 5 tidspunkt B, der det reelt ikke var noen prøver; oppgir lave snittverdier også for gruppe 8, der altså fire av fem spegris hadde høye verdier gjennom hele forsøket (se over); og at han oppgir SEM for gruppe 10, tidspunkt B, der det bare var én prøve (da kan SEM reelt ikke beregnes.)

Deretter har jeg sammenliknet de verdiene en får for «Host fold response» relativ til placebo ved å bruke de reelle tallene, gjort med to alternative regnemåter (se over); med de verdiene en kan lese ut av figur 2 i det første utkastet til artikkel 5 (fra juni 2012), og ut fra figur 5 i det neste utkastet (fra august 2012), som også står i den ferdige avhandlingen.

Da ser en at samme hvordan en regner, er det ikke mulig å få vesentlige forskjeller mellom gruppene, ut fra de reelle tallene. I skarp kontrast til dette viser figur 2 i det første utkastet dramatiske forskjeller; med verdier for Host fold response» relativ til placebo helt oppe i 120 og 170. Og disse utslagene stemmer helt med forhåndshypotesen om at effektiv antibiotikabehandling skulle stimulere immunforsvaret. Inkludert «forventet» virkning av andre tilleggsbehandlinger: Mindre utslag hos de som fikk Metacam (betennelsesdempende virkning), større utslag hos de som fikk Zoolac (også antatt å kunne stimulere immunforsvaret), etc.

I figur 5 fra den ferdige artikkelen, derimot, er disse utslagene helt borte, og søylene i figuren stemmer relativt bra med de tallene en får ved riktig beregning fra de reelle originaltallene.

Det er vanskelig å tolke dette annerledes enn at det som var angitt i figur 2 i det første utkastet var fiktive, oppdiktete resultater. Og at dette ganske enkelt ble fjernet, etter at jeg hadde stilt spørsmål om disse verdiene ved min kommentar til førsteutkastet. Trolig ble disse store «utslagene» fjernet fordi Leon Cantas forsto at å rapportere stigning i gamma-globulin i et forsøk som bare varte et døgn var en tabbe, som flere enn jeg kunne komme til å reagere på. Dermed ble de simpelthen fjernet, i håp om at vi medforfatterne ville forholde oss til det neste utkastet, og ikke tenke over det «resultatet» som var blitt borte. Og slik gikk det faktisk. Jeg tenkte heller ikke over dette før jeg gikk tilbake og så på alle papirene, i mitt arbeid med dokumentasjonen i denne saken høsten 2017.

Gamma-globulin i serum fra spegris: Sammenligning mellom originaldataene fra Sentrallaboratoriet og tallene i tabellen «Supplementary material 2» i Paper V.

Alle tall angir g gammaglobulin pr. liter serum. Tallene til venstre bygger på originaldataene; slik de foreligger i kopier av utskrift fra Sentrallaboratoriet (vedlagt). Beregning av snitt og SEM ut fra originaldataene er gjort av meg. Tallene til høyre er fra tabellen «Supplementary material 2», sist i Paper V i avhandlingen.

Gruppe	Tidspunkt	Originaldata fra Sentrallaboratoriet			Tallene i Paper V	
		n*	Snitt	SEM	Snitt	SEM
0 - Kontroll	A (0h)	5	0,50	0,05	0,4	0,04
	B (6-8h)	3	0,97	0,57	0,4	0,03
	C (24-32h)	5	0,72	0,30	0,4	0,04
1 - Placebo	A (0h)	6	0,55	0,03	0,5	0,03
	B (6-8h)	5	0,70	0,07	0,6	0,08
	B (alt.ber.**)	(5)	3,58	1,43		
	C (24-32h)	6	0,63	0,09	0,8	0,06
2 - Terramycin	A (0h)	4	0,50	0,04	0,5	0,05
	B (6-8h)	2	0,40	0,00	0,5	0,06
	C (24-32h)	5	0,56	0,09	0,5	0,05
3 - Baytril < MIC	A (0h)	5	0,46	0,02	0,54	0,06
	B (6-8h)	4	0,45	0,06	0,48	0,05
	C (24-32h)	5	0,56	0,04	0,56	0,07
4- Baytril > MIC	A (0h)	5	0,46	0,05	0,46	0,05
	B (6-8h)	5	0,62	0,09	0,58	0,07
	C (24-32h)	5	0,66	0,07	0,72	0,03
5 - Metacam + placebo	A (0h)	5	0,54	0,05	0,5	0,05
	B (6-8h)	0	-	-	0,48	0,11
	C (24-32h)	5	0,68	0,12	0,6	0,05
6 - Metacam + Baytril > MIC	A (0h)	5	0,50	0,04	0,5	0,04
	B (6-8h)	5	0,54	0,05	0,52	0,2
	C (24-32h)	5	0,44	0,02	0,54	0,02
7- Zoolac + placebo	A (0h)	5	0,58	0,07	0,54	0,05
	B (6-8h)	5	0,54	0,05	0,42	0,04
	C (24-32h)	5	0,66	0,05	0,66	0,04
8 - Zoolac + Metacam	A (0h)	5	3,64	1,62	0,44	0,02
	B (6-8h)	4	5,75	1,97	0,6	0,01
	C (24-32h)	5	7,14	2,45	0,66	0,04
9 - Zoolac + Baytril > MIC	A (0h)	3	0,37	0,03	0,625	0,04
	B (6-8h)	4	2,75***	2,28***	0,55	0,1
	C (24-32h)	4	0,45	0,03	0,54	0,04
10 - Zoolac + Baytril > MIC + Metacam	A (0h)	3	0,37	0,07	0,6	0,04
	B (6-8h)	1	0,30	-	0,7	0,1
	C (24-32h)	3	0,53	0,19	0,96	0,4

*n (antall prøver) varierer, dels fordi noen ikke ble tatt, og noen kunne ikke brukes av labben (hemolyse mm.)

**På akkurat dette tidspunktet foreligger det flere prøver fra de samme grisene tatt på samme tidspunkt, som f.eks. er merket «1.2.2A» og «1.2.2B» i listene fra labben. For gamma-globulin skiller noen av dem seg mye, resultatmessig. Noen har høye og usannsynlige verdier, mens andre har logiske verdier, som også er på nivå med verdiene på tidspunkt C. I den øverste beregningen har jeg regnet de prøvene med logiske verdier som gjeldende. Men for å unngå å skjule noe, har jeg i den nederste merket «alternativ beregning» regnet snitt av alle prøvene for hver gris og tidspunkt, inkludert de som er usannsynlig høye. Og deretter regnet snitt av de 5 grisene.

*** Denne høye verdien er resultat av en enkelt høy prøve, som trolig også er resultat av en feil med prøven (hemolyse e.l.)

Gamma-globulin i serum fra spegris: Sammenligning mellom “Host Fold Response” beregninger ut fra originaldataene fra Sentrallaboratoriet og de tallene som framgår av figurene i 1. utkast og i den endelige versjonen av Paper V.

Gruppe	Beregning av gamma-globulin HFR relativ til placebo - ut fra de reelle originaldataene fra Sentrallaboratoriet:			Tall lest fra fig. 2, Paper V, 1. utkast, juni 2012	Tall lest fra fig. 5, (Fig 11) Paper V, 2. utkast, aug 2012 og endelig versjon
	n*	Mest korrekt regnet (Beregning A)	Alternativ beregning (Beregning B)		
		Snitt	Snitt		
0 - Kontroll	3	0,8	1,5	***	***
1 - Placebo	5	1,0	1,0	1,0	1,0
2 - Terramycin	1	2,1	4,1	9	0,8
3 - Baytril < MIC	4	1,6	3,2	35	1,0
4- Baytril > MIC	5	1,0	1,9	120	0,8
5 - Metacam + placebo	0	****	-	6	0,9
6 - Metacam + Baytril > MIC	5	0,9	1,8	40	0,8
7- Zoolac + placebo	5	1,5	2,9	80	1,5
8 - Zoolac + Metacam	4	0,7	1,4	60	0,5
9 - Zoolac + Baytril > MIC	3	0,6	1,2	170	0,8
10 - Zoolac + Baytril > MIC + Metacam	1	1,1	2,2	65	0,8

*n blir ved HFR- beregning redusert til individer der det foreligger resultater for alle tidspunktene A, B og C.

** Cirka-verdier, avlest på øyemål i figurene. ***Gruppe 0 er ikke med i figurene, som angir relative resultater ifht. placebo

****Streken markerer at tallet ikke lar seg beregne, på grunn av manglende verdier.