บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

สถานที่ทำวิจัยและฟาร์มสุกร

การวิจัยดำเนินการที่คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ โดยในระหว่างการดำเนินการวิจัย มีการเก็บตัวอย่าง เยี่ยมฟาร์ม และเก็บข้อมูลจากฟาร์มสุกรเอกชนที่ร่วมทดลอง จำนวน 20 ฟาร์ม ฟาร์มสุกรที่ใช้ในการศึกษาจำนวน 20 ฟาร์ม เป็นฟาร์มสุกรพ่อแม่พันธุ์ขนาด 300-4,000 แม่ ฟาร์มทดลองมีการจดบันทึกการจัดการสุกรสาวทดแทน และมีระบบการบันทึกข้อมูลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ จำนวนแม่สุกรที่ทำการศึกษาทั้งหมดไม่ต่ำกว่า 50,000 ตัว พันธุ์ของสุกรที่คัดเลือกมาศึกษาเป็นสุกรพันธ์ผสมแลนด์เรซxยอร์กเชียร์

การจัดการฟาร์ม

สุกรสาวถูกนำเข้าฝูงเมื่อมีน้ำหนักตัว 92.2±1.1 กิโลกรัม (อายุ 164.2±1.7 วัน) และถูกส่งเข้าฝูงแม่พันธุ์เพื่อผสมพันธุ์ที่น้ำหนักตัว 130.3±2.0 กิโลกรัม (อายุ 218.9±2.7 วัน) สุกรสาวในฝูงสุกรสาวถูกเลี้ยงรวมกันในคอก 6-15 ตัวต่อคอกโดยมีพื้นที่ต่อตัว 1.5-2 ตารางเมตร น้ำให้กินไม่จำกัดโดยใช้จุ๊บน้ำ อาหารส่วนประกอบหลัก คือ ข้าวโพด ถั่ว และปลา มีโปรตีนหยาบ 16-18% พลังงานที่ใช้ได้ 3,000-3,400 กิโลแคลอรี่ต่อกิโลกรัม และมีไลซีน 0.85-1.00%) ให้กินประมาณ 3 กิโลกรัมต่อวันต่อตัว โดยทั่วไปสุกรสาวจะได้รับวัคซีนป้องกันเชื้อไวรัสปากและเท้าเปื่อย เชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร เชื้อไวรัสเอดี และเชื้อพาร์โวไวรัสในสุกรในช่วงอายุ 22 - 30 สัปดาห์ และบางฟาร์มทำวัคซีนป้องกันเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส โรคโพรงจมูกอักเสบติดต่อในสุกร โรคไมโคพลาสมา และโรค *Actinobacillosis pleuropheumoniae* ส่วนใหญ่แม่สุกรหย่านมที่ถูกคัดทิ้งจะนำไปใช้ในการคลุกสุกรสาวทดแทนนาน 4 สัปดาห์ด้วยอัตราส่วนแม่สุกร 1 ตัวต่อสุกรสาว 6-10 ตัว และจะมีการเปลี่ยนแม่สุกรทุกสัปดาห์ หลังจากการคลุกสุกรสาวแล้วแม่สุกรเหล่านี้จะถูกนำออกจากฝูง โปรแกรมการคลุกสุกรสาวจะทำเมื่อสุกรสาวทดแทนอายุ 22–28 สัปดาห์เพื่อให้สุกรสาวได้รับการกระตุ้นภูมิตามธรรมชาติจากแม่สุกรหย่านม จากขั้นตอนการคลุกสุกรสาวจะทำให้สุกรสาวได้สัมผัสกับเชื้อไวรัสหลากหลายชนิดที่วนเวียนอยู่ในฝูง (เช่น เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ในฟาร์ม และเชื้อเอนเทอโรไวรัส) ก่อนนำขึ้นฝูงแม่พันธุ์ โดยทั่วไปแล้วสุกรสาวทดแทนจะได้รับการผสมที่อายุ 32 สัปดาห์ขึ้นไป และน้ำหนักตัวอย่างน้อย 130 กิโลกรัมที่การเป็นสัดรอบที่ 2 หรือมากกว่า การผสมพันธุ์ใช้การผสมเทียมทุกฟาร์ม

การเก็บตัวอย่างเลือด

ทำการศึกษาทางซีรั่มวิทยาความชุกของโรคติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส พิษสุนัขบ้าเทียมและพาร์โวไวรัส จากฟาร์มสุกรจำนวน 5 ฟาร์ม (A B C D และ E) โดยเก็บข้อมูลย้อนหลังระหว่างปี พ.ศ. 2547 ถึงปี พ.ศ. 2550 จากสุกร 7,030 ตัว (พ่อสุกร 764 ตัว, สุกรสาว 3,364 ตัว, แม่สุกร 1,613 ตัว สุกรอนุบาลอายุ 4-9 สัปดาห์ 646 ตัว และสุกรขุนอายุ 10-26 สัปดาห์ 643 ตัว) โดยทั่วไปการตรวจทางซีรั่มวิทยาต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสจะทำทุกเดือนในสุกรสาวทดแทน และ 1-2 ครั้งต่อปีในสุกรกลุ่มอื่นๆ การตรวจทางซีรั่มวิทยาต่อเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมตรวจปีละ 1 ครั้งในสุกรทุกกลุ่ม การตรวจหาเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสและการตรวจหาโปรตีนส่วน gl ของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมตรวจโดยห้องปฏิบัติการที่เป็นมาตรฐานในประเทศไทยส่วนใหญ่ (ยกเว้นฟาร์ม E) ตรวจที่คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ในการศึกษาแบบเก็บข้อมูลเพิ่มเติม ทำการเก็บตัวอย่างเลือดจำนวน 200 ตัวอย่าง (สุกรสาว 40 ตัวต่อฟาร์ม) โดยเก็บมาจากหลอดเลือดดำของสุกรสาวทดแทนสุขภาพดี (อายุเฉลี่ย 244.7±5.8 วัน) ในช่วงเวลาเดียวกัน ตัวอย่างเลือดถูกเก็บมาจากสุกร 3 กลุ่มได้แก่ สุกรก่อนคลุก (50 ตัว) สุกรหลังคลุก (50 ตัว) และสุกรตั้งท้องระยะกลาง (68.8±1.4 วัน) (100 ตัว) ในส่วนสุดท้ายตัวอย่างเลือด อวัยวะสืบพันธุ์

ข้อมูลทางซีรั่มวิทยาในสุกรสาวที่มีปัญหาทางการสืบพันธุ์ เก็บมาจากสุกรสาวที่ถูกส่งโรงฆ่าสัตว์จำนวน 166 ตัว ตัวอย่างถูกเก็บบนน้ำแข็งในภาชนะปิดสนิทและนำส่งห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมงหลังการคัดทิ้ง ข้อมูลที่เก็บมาจากแต่ละฟาร์มประกอบด้วยเบอร์สุกรสาว วันเกิด วันที่นำเข้าฝูง วันผสม วันคัดทิ้ง น้ำหนักตัวเมื่อคัดทิ้ง และเหตุผลในการคัดทิ้ง อายุที่ผสมครั้งแรกและอายุที่ถูกคัดทิ้งถูกนำมาคำนวณ อัตราการเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (ADG) ตั้งแต่เกิดถึงคัดทิ้งถูกคำนวณโดย อัตราการเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (กรัมต่อวัน) = (น้ำหนักตัวเมื่อคัดทิ้ง - 1.5 /อายุเมื่อคัดทิ้ง) x 1,000 (Tummaruk et al. 2009b) อัตราการเติบโตเฉลี่ยต่อวันถูกคำนวณเพื่อใช้ในการดูสถานะทางสุขภาพของสุกรสาวในช่วงที่กำลังเจริญเติบโต เหตุผลในการคัดทิ้งแบ่งเป็น 4 กลุ่มได้แก่ แท้ง ไม่เป็นสัด ผสมซ้ำ และมีสิ่งคัดหลั่งผิดปกติจากช่องคลอด ข้อมูลทางกายวิภาคแสดงไว้ในการศึกษาครั้งก่อน (Tummaruk et al. 2009a) ในส่วนที่สองและส่วนสุดท้าย ตัวอย่างซีรั่มทั้งหมดถูกวิเคราะห์ที่หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การตรวจทางซีรั่มวิทยา

ตัวอย่างเลือดถูกทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้เลือดแข็งตัวแล้วเอาซีรั่มไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อใช้ในการตรวจทางซีรั่มวิทยาต่อไป การตรวจหาแอนติบอดี้ต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในฟาร์มส่วนใหญ่ (ยกเว้นฟาร์ม E) ใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป HerdChek® PRRSV antibody test kit 2XR (IDEXX Laboratories, Inc., USA) โดยใช้วิธีการตรวจตามคู่มือของชุดทดสอบ วิธีโดยสังเขป ได้แก่ ตัวอย่างควบคุมที่เป็นบวกและลบจะทดสอบพร้อมกับตัวอย่าง ค่าสัดส่วนของ serum sample/positive control (S/P) จะถูกคำนวณ ถ้าสัดส่วน S/P ต่ำกว่า 0.4 หมายถึง ตัวอย่างไม่มีแอนติบอดี้ต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส (ลบ) แต่ถ้าสัดส่วน S/P มากกว่าหรือเท่ากับ 4 หมายถึง ตัวอย่างเป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ในฟาร์ม E การตรวจหาแอนติบอดี้ต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในช่วงแรกของการศึกษาใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป HIPRA PRRSV antibody test kit (HIPRA Laboratories, Inc., Spain) ตัวอย่างจะถูกแปลผลเป็นบวกถ้ามีค่า percentage relative index มากกว่า 20 การตรวจหาแอนติบอดี้ต่อโปรตีนส่วน gl ของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมในทุกฝูงใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป HerdChek® Anti-PRV gpI test kit (IDEXX Laboratories, Inc., USA) โดยใช้วิธีการตรวจตามคู่มือของชุดทดสอบ

การตรวจหาแอนติบอดี้ต่อเชื้อพาร์โวไวรัสใช้วิธี Haemagglutination inhibition (HI) วิธีทดสอบโดยสังเขป ได้แก่ นำซีรั่ม 0.2 มิลลิลิตรไปทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียสนาน 30 นาที และผสมกับสารแขวนลอย 25% Kaolin 0.6 มิลลิลิตรในสารละลาย phosphate buffer solution (PBS) ทิ้งตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 20 นาที จากนั้นนำไปปั่นและผสมกับเม็ดเลือดแดงหนูตะเภาในสารละลาย PBS ความเข้มข้น 50% ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องต่อนาน 1 ชั่วโมง เติมตัวทำละลายลงในเพลทและผสมกับตัวอย่างซีรั่ม 50 ไมโครลิตร ตัวอย่างที่ถูกเจือจางเป็นลำดับ (เจือจาง 1:2 ในทุกครั้ง) จำนวน 12 ความเข้มข้น (1:4 ถึง 1:4,096) ถูกเติมลงในเพลทโดยใช้ไมโครปิเปตชนิดหลายช่องพร้อมกับตัวอย่างควบคุมที่เป็นบวกและลบ เติม hemagglutination unit ของเชื้อพาร์โวไวรัส 8 unit ปริมาณ 25 ไมโครลิตรและเม็ดเลือดแดงของหนูตะเภา 0.6% ลงในทุกช่องแล้วทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 60-90 นาที หรือจนกระทั่งสังเกตเห็นการตกตะกอน ระดับแอนติบอดี้ต่อเชื้อพาร์โวไวรัสที่น้อยกว่า 1:8 หมายถึงไม่มีการเพิ่มขึ้นของ

ระดับแอนติบอดี้ ระดับแอนติบอดี้ต่อเชื้อพาร์โวไวรัสตั้งแต่ 1:16 ถึง 1:512 หมายถึงมีการเพิ่มขึ้นของระดับแอนติบอดี้ในระดับกลาง และระดับแอนติบอดี้ที่มากกว่า 1:512 หมายถึงมีแอนติบอดี้อยู่ในระดับสูง (Oravainen et al., 2005) ถ้าผลตรวจเป็นบวกต่อเชื้อพาร์โวไวรัส ระดับแอนติบอดี้จะถูกจัดเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ ระดับต่ำ (≤1:512) และระดับสูง (>1:512) การตรวจทางซีรั่มวิทยาในส่วนที่สองและส่วนสุดท้ายของการศึกษาตรวจโดยห้องปฏิบัติการเดียวกัน (หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพ ประเทศไทย)

การตรวจแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส

ตรวจแอนติบอดีต่อไวรัสโรคพีอาร์อาร์เอส โดยใช้ชุดทดสอบ HerdChek PRRS Virus Antibody Test Kit 2XR (IDEXX Laboratories, Inc.) โดยมีขั้นตอนโดยสรุป ดังนี้ เจือจางตัวอย่างซีรั่มใน plate U shape (diluting plate) ให้เจือจาง 40 เท่า โดยใส่ตัวทำเจือจาง 195 µl ต่อตัวอย่างซีรั่ม 5 µl ใส่ซีรั่มควบคุมบวกและลบ ใน strip หลุมละ 100 µl โดยไม่ต้องเจือจาง ดูดซีรั่มใน diluting plate ใส่ใน strip coat plate หลุมละ 100 µl โดยซีรั่มหนึ่งตัวอย่างต้องใส่ในหลุมที่เคลือบด้วยแอนติเจนของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส (PRRS) 1 หลุมและ normal host cell (NHC) 1 หลุม หลังจากนั้น incubate 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เสร็จแล้วเตรียม Washing solution โดยเจือจางจาก stock ลง 10 เท่า ล้าง Strip 4 ครั้ง ๆ ละ 300 µl ใส่ Conjugate หลุมละ 100 µl ชนิด Anti - Porcine : HRPO Conjugate incubate 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นล้าง Strip 4 ครั้ง ๆ ละ 300 µl แล้วใส่ Substrate หลุมละ 100 µl ชนิด TMB Substrate incubate 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วใส่ Stop solution หลุมละ 100 µl วัดค่า OD ด้วยเครื่อง ELISA READER ที่ความเข้มแสง 650 นาโนมิเตอร์ ทำการแปลผล โดยหาค่า serum sample/ positive control (S/P) จากสูตร (OD ซีรั่มตัวอย่างส่งตรวจหลุม PRRS-OD ซีรั่มตัวอย่างส่งตรวจหลุม NHC)/(OD เฉลี่ยของซีรั่มควบคุมบวกหลุม PRRS–OD เฉลี่ยของซีรั่มควบคุมบวกหลุม NHC) S/P ที่มีค่าน้อยกว่า 0.4 หมายถึงตัวอย่างนั้นไม่มีแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส S/P ที่มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 0.4 หมายถึงตัวอย่างนั้นมีแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส

การตรวจเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสด้วยวิธีอิมมูโนฮีสโตเคมี

การตรวจเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสด้วยวิธีอิมมูโนฮีสโตเคมีทำตามขั้นตอนการศึกษาก่อนหน้านี้ที่ทำในเนื้อเยื่อปอดโดยมีการเปลี่ยนแปลงบางส่วน (Laohasittikul et al. 2004) โดยสังเขปคือตัวอย่างจะถูกฝังไว้ในพาราฟิน จากนั้นนำไปตัดเป็นแผ่นหนา 4 ไมครอนแล้วนำไปวางบนแผ่นสไลด์ที่เคลือบด้วย 3-aminopropyl-triethoxysilane นำสไลด์ชิ้นเนื้อไปละลายพาราฟินออกในไซลีนและ rehydrate ในแอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นลำดับ การศึกษาครั้งนี้ใช้เทคนิค polymer-based non-avidin-biotin โดยสังเขปคือเพิ่มปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี้โดยใช้เอมไซม์ 0.1% trypsin ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ล้างด้วย phosphate buffered solution (PBS) แล้วยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ endogenous peroxidase โดยการจุ่มสไลด์ลงใน 0.3% hydrogen peroxide (H_2O_2) ใน absolute methanol นาน 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำสไลด์ชิ้นเนื้อไปจุ่มใน 1% bovine serum albumin ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วนำไปทำปฏิกิริยากับ primary monoclonal antibody SDOW17 (Rural Technologies, Inc., USA) ที่เจือจางในอัตราส่วน 1:1,000 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสข้ามคืน (12-15 ชั่วโมง) หลังจากล้างสไลด์ใน PBS แล้วจึงหยด dextran ที่จับกับ peroxidase molecules และ goat secondary antibody (Dako REAL™ Envision™/HRP, Rabbit/Mouse®, Dako, Denmark) ลงบนสไลด์

แล้วนำไปอบที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 45 นาที ในขั้นตอนสุดท้ายทำให้เกิดสี (สีน้ำตาล) โดยใช้ 0.05% 3,3'–diaminobenzidine tetrahydrochloride (0.01 M Tris-HCl ที่ pH 7.6) นาน 4-15 นาที สไลด์ชิ้นเนื้อทุกแผ่นย้อมด้วยสี Mayer's hematoxylin ดึงน้ำออกจากชิ้นเนื้อ แล้วนำไปปิดด้วยกระจกปิดสไลด์เพื่อนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดแสง ชิ้นเนื้อควบคุมที่เป็นลบทำเช่นเดียวกันยกเว้นไม่ใส่ primary antibody ชิ้นเนื้อปอดและต่อมน้ำเหลืองที่ติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสถูกนำมาใช้เป็นตัวควบคุมที่เป็นบวก สไลด์ชิ้นเนื้อจะถูกแปลผลว่าเป็นบวกถ้ามีเซลล์บวก (ติดสีน้ำตาลในไซโตพลาสซึม, รูปที่ 1) อย่างน้อย 1 เซลล์

การตรวจระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคพีอาร์อาร์เอสหลังการฉีดวัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็น

งานวิจัยส่วนนี้ทำขึ้นในช่วงระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงเดือนกันยายน กับสุกรนางจำนวน 1,200 ตัว จากฝูงสุกรในประเทศไทยซึ่งมีการผลิตสุกรสาวทดแทนของตัวเองและไม่เคยได้รับการฉีดวัคซีนพีอาร์อาร์เอสมาก่อน ทำการเก็บข้อมูลของการแท้งในสุกรนางในเดือนมกราคม และพบว่ามีเชื้อพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์อเมริกาในซีรั่มของสุกรนางที่แท้งโดยใช้การตรวจจาก RT-PCR ทำการฉีดวัคซีนพีอาร์อาร์เอสแบบ MLV (Ingelvac® PRRSTM MLV, Boehringer-Ingelheim, Vetmedica Inc., St.Josept, Missouri, USA) ในสุกรสาวและสุกรนางจำนวน 2 โด๊ส ห่างกัน 3 สัปดาห์และกระตุ้นซ้ำที่ 14 สัปดาห์ และ 3 เดือน จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างเลือดจากสุกรสาวทดแทนและสุกรสาวสุกรนางที่ตั้งท้อง (36 ตัวอย่าง) 1 วันก่อนการฉีดวัคซีน (สัปดาห์ที่ 0) และสัปดาห์ที่ 2 5 9 12 18 หลังการฉีดวัคซีน แล้วเก็บซีรั่มเพื่อตรวจหาเชื้อไวรัสโดยใช้วิธี RT-PCR และวิเคราะห์แอนติบอดี้ต่อโรคพีอาร์อาร์เอสโดยใช้วิธี ELISA (HerdChek® PRRS virus antibody test kit 2XR, IDEXX Laboratories, Inc., USA) จากนั้นเปรียบเทียบเปอร์เซนต์ของซีรั่มที่ติดเชื้อของสุกรสาวและสุกรนาง และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของอัตราส่วนซีรั่มตัวอย่างและซีรั่มควบคุมที่ให้ผลบวก (S/P)

การเก็บข้อมูลและการวิเคราะห์ผล

ในการวิจัยปีที่ 1 สามารถคัดเลือกฟาร์มสุกรในการศึกษาได้ 8 ฟาร์ม โดยเป็นฟาร์มสุกรพ่อแม่พันธุ์ขนาด 900-4,000 แม่ มีจำนวนข้อมูลการผสมพันธุ์ทั้งหมด 192,765 ข้อมูล จากแม่สุกรจำนวน 67,537 ตัว โดยการวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นพบว่าฟาร์มเหล่านี้ติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสมาแล้วไม่ต่ำกว่า 5 ปี ฟาร์มที่ 1-3 มีการทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสเชื้อเป็น แต่มีรูปแบบการทำวัคซีนที่แตกต่างกัน โดยฟาร์มที่ 1 ฉีดวัคซีนปูพรมทุก 3 เดือน ฟาร์มที่ 2 ทำแบบไม่ต่อเนื่อง และฟาร์มที่ 3 ทำวัคซีนเฉพาะในสุกรสาวทดแทน ในขณะที่อีก 5 ฟาร์มยังไม่เคยทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอส

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางสถิติใช้โปรแกรม Statistical Analysis System (SAS) version 9.0 (SAS Inst. Inc., Cary, NC., USA) ข้อมูลเชิงปริมาณนำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±SEM และข้อมูลเชิงคุณภาพนำเสนอเป็นค่าร้อยละ (เปอร์เซนต์) ในการศึกษาแรก เปอร์เซนต์สุกรที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส โปรตีนส่วน gl ของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียม และเชื้อพาร์โวไวรัส (แอนติบอดี้มากกว่า 1:512) ถูกคิดจากการวิเคราะห์ความถี่ (ตาราง $r \times k$ contingency) ค่าสัดส่วนถูกนำมาเปรียบเทียบระหว่างฟาร์ม (5 ฟาร์ม) ปี (2547-2550) และกลุ่มอายุของสุกร (อนุบาล ขุน สุกรสาว แม่สุกร และพ่อสุกร) ด้วยวิธี logistic regression โดยใช้ GENMOD procedure ของโปรแกรม SAS ในการศึกษาที่สอง สุกรสาวทดแทนถูกจัดกลุ่มเป็น 3 กลุ่ม (ได้แก่ ก่อนคลุก หลังคลุก และช่วงกลางของการอุ้มท้อง) เปรียบเทียบเปอร์เซนต์ของสุกรที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส

โปรตีนส่วน gI ของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียม และเชื้อพาร์โวไวรัสระหว่างกลุ่มโดยใช้การทดสอบชนิด Chi-squares การศึกษาส่วนสุดท้าย สุกรสาวถูกจัดกลุ่มตามเหตุผลของการถูกคัดทิ้ง เปรียบเทียบเปอร์เซนต์สุกรที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส โปรตีนส่วน gI ของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียม และเชื้อพาร์โวไวรัสโดยใช้การทดสอบชนิด Chi-squares การวิเคราะห์ข้อมูลต่อเนื่องซึ่งได้แก่อายุเมื่อถูกคัดทิ้ง (วัน) น้ำหนักตัวเมื่อถูกคัดทิ้ง (กิโลกรัม) อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย (กรัมต่อวัน) อายุเมื่อผสมครั้งแรก (วัน) และจำนวนการตกไข่ (จำนวนของคอร์ปัสลูเทียม) ใช้วิธี general linear model สาเหตุการคัดทิ้งถูกนำไปใช้เป็นตัวแปรต้นในการวิเคราะห์ทางสถิติ คำนวณค่า least-squares means และเปรียบเทียบโดยใช้ Tukey-Kramer adjustment $P<0.05$ หมายถึงมีนัยสำคัญทางสถิติ