

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

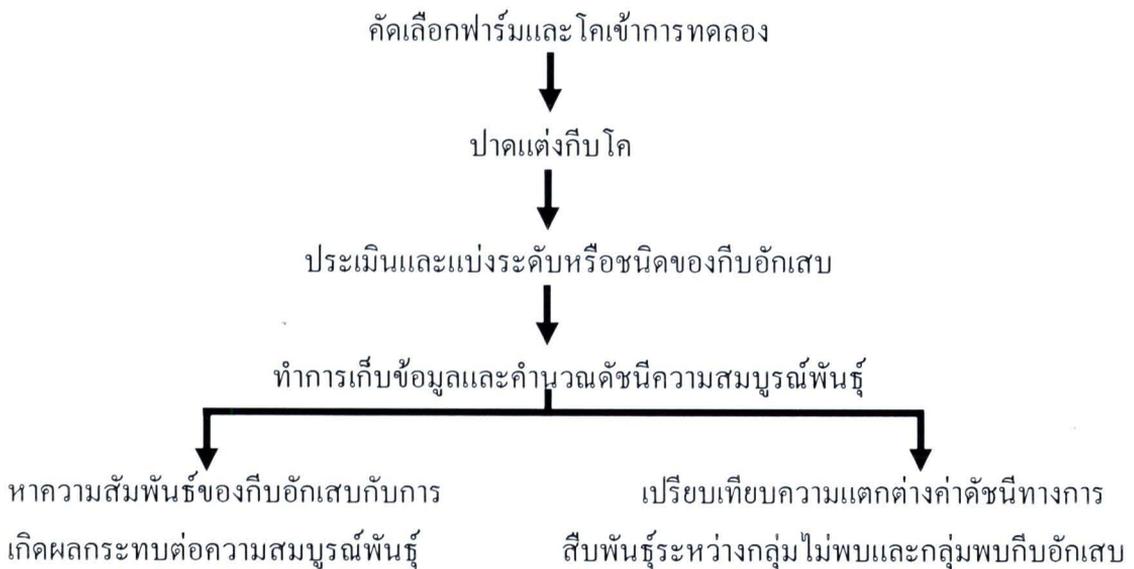
ทำการศึกษาภาวะกีบอักเสบในโคนม เพื่อหาผลของกีบอักเสบต่อความสมบูรณ์พันธุ์ โดยแบ่งการวิจัยออกเป็น 2 การทดลอง โดยการทดลองที่ 1 ศึกษาผลของภาวะกีบอักเสบต่อความสมบูรณ์พันธุ์ในฟาร์มโคนมรายย่อย และการทดลองที่ 2 ศึกษาผลของภาวะกีบอักเสบต่อความสมบูรณ์พันธุ์ในฟาร์มโคนมขนาดใหญ่

3.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของภาวะกีบอักเสบต่อความสมบูรณ์พันธุ์ในฟาร์มโคนมรายย่อย

3.1.1 แผนการวิจัย

ศึกษาภาวะกีบอักเสบจากรอยโรคที่พื้นกีบ โดยการปาดแต่งกีบโคและประเมินคะแนนรอยโรคกีบอักเสบ (laminitis score) หลังจากการปาดแต่งกีบ และแบ่งเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มปกติ (normal) กลุ่มพบรอยโรคตกเลือดที่พื้นกีบเพียงเล็กน้อย (mild hemorrhage) และกลุ่มกีบอักเสบแบบไม่แสดงอาการ (subclinical laminitis) จำนวนที่พบในแต่ละกลุ่มนำมาวิเคราะห์หาความชุกของกีบอักเสบ

บันทึกข้อมูลโครายตัวและข้อมูลระบบสืบพันธุ์ โดยข้อมูลระบบสืบพันธุ์ใช้วิธีการศึกษาข้อมูลย้อนหลัง (retrospective study) จนถึงวันคลอดครั้งล่าสุดและติดตามข้อมูลไปข้างหน้าจนถึง 200 วันหลังคลอดครั้งสุดท้าย (cohort study) ทำการประเมินความสมบูรณ์พันธุ์โดยคำนวณค่าดัชนีทางการสืบพันธุ์รายตัว วิเคราะห์หาผลกระทบของภาวะกีบอักเสบต่อความสมบูรณ์พันธุ์ โดยหาความสัมพันธ์ระหว่างกีบอักเสบกับค่าดัชนีทางการสืบพันธุ์ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าดัชนีทางการสืบพันธุ์ โดยแบ่งเป็นกลุ่มที่ไม่พบและพบภาวะกีบอักเสบ แผนการศึกษาแสดงในภาพที่ 3.1



ภาพที่ 3.1 แผนการวิจัยการทดลองที่ 1

3.1.2 เกณฑ์การวิจัย

3.1.2.1 การเลือกฟาร์มเลี้ยงโคนม

1. เป็นฟาร์มเลี้ยงโคนมของเกษตรกร ที่มีแม่โครีคนม 20 แม่รีคขึ้นไป
2. เป็นฟาร์มที่เป็นสมาชิกของสหกรณ์การเลี้ยงโคนม และทำการเลี้ยงมาเป็นระยะเวลาไม่น้อยกว่า 3 ปี
3. เป็นฟาร์มที่มีการจัดเก็บข้อมูลทางการสืบพันธุ์ของโคนมที่ต้องการได้สมบูรณ์

3.1.2.2 การคัดเลือกสัตว์ทดลอง

1. เป็นโคนมเพศเมียตั้งแต่ท้องที่ 1 ขึ้นไป
2. สุ่มเลือกโคนมที่ไม่มีอาการจากะผลกเพื่อเข้าทำการศึกษา จำนวน โคที่เข้าศึกษาคำนวณโดยใช้โปรแกรม winepiscope version 2.0 กำหนดความชุก (expected prevalence) ของกีบอีกเสบที่ร้อยละ 30 ความคลาดเคลื่อนที่ร้อยละ 5 และช่วงเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 โดยใช้จำนวนร้อยละ 20 ของฝูงแม่โครีคนม
3. โคนมทุกตัวที่ถูกสุ่มเข้าการศึกษามีระยะเวลาให้นม (day in milk, DIM) ไม่เกิน 200 วันรีคนม
4. โคนมที่ใช้ในการศึกษามีการบันทึกข้อมูลการสืบพันธุ์ที่สมบูรณ์

3.1.2.3 การเลี้ยงและดูแลสัตว์ทดลอง

ทุกฟาร์มที่ศึกษา (22 ฟาร์ม) มีระบบการเลี้ยงแบบปล่อยเดินอิสระในคอก (loose housing system) ไม่มีป้อจุ่มกีบและโปรแกรมปาดแต่งกีบประจำปี มีการจัดการด้านอาหารและพื้นที่คอกจำแนกในแต่ละพื้นที่ ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 การจัดการด้านอาหารและพื้นที่คอกจำแนกในพื้นที่จังหวัดขอนแก่นและสระบุรี

การจัดการ	สระบุรี	ขอนแก่น		รวม
	อ.มวกเหล็ก (ฟาร์ม)	อ.เมือง (ฟาร์ม)	อ.น้ำพอง (ฟาร์ม)	
วิธีการให้อาหาร				
แยกให้อาหารหยابกับอาหารชั้น*	5	6	0	11
ผสมอาหารหยابกับอาหารชั้นจ่ายในมือรีดนม	2	0	9	11
จำนวนมือที่ให้อาหารชั้นต่อวัน				
2 มือต่อวัน	7	4	6	17
มากกว่า 2 มือต่อวัน	0	2	3	5
พื้นที่คอก				
คอนกรีตบางส่วน	6	5	6	17
ไม่มีพื้นคอนกรีตในคอก	1	1	3	5

* ให้อาหารชั้นในมือรีดนม และให้อาหารหยابหลังจากอาหารชั้น

3.1.3 สถานที่ทำการวิจัย

ฟาร์มโคนมรายย่อยอยู่ในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ อำเภอน้ำพอง และอำเภอน้ำพอง จังหวัดขอนแก่น เขตพื้นที่ภาคกลาง อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี

3.1.4 ระยะเวลาในการวิจัย

ระหว่างเดือน พฤษภาคม 2551 ถึง เดือน มกราคม 2552

3.1.5 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1.5.1 การปาดแต่งกีบ

ทำการปาดแต่งกีบโคในของรีดนมโดยใช้เชือกบังคับ ร่วมกับการให้ยาสงบประสาท (xylazine hydrochloride) (Greenough, 1997) เข้าทางเส้นเลือดดำ ขนาด 0.05 มิลลิกรัมต่อ

กิโกรัม น้ำหนักตัวสัตว์ ทำการปาดแต่งกีบตามวิธีของ Toussaint (1985) โดยเริ่มจากกีบด้านใน ใช้ คีมตัดกีบทำการตัดปลายกีบให้เหลือความยาวของกีบเท่ากับค่าปกติ (6-8 เซนติเมตร) และทำการตัด แต่งผนังด้านข้างเพื่อให้เข้ารูปกีบ ทำการปาดพื้นกีบเพื่อลดความหนาและให้ได้มุมมองขาที่พอดีกับ ปลายกีบ (45-50 องศา) โดยใช้เครื่องปาดแต่งกีบมอเตอร์ไฟฟ้า (BOSCH® 850C) และใบสำหรับ ฝนกีบ (IP Philipsen® hoof abrasive disc) ส่วนกีบนอกทำการปาดแต่งเช่นเดียวกับกีบด้านใน ทำ การปาดแต่งกีบจนครบทั้ง 4 ขา ในโค 1 ตัว

3.1.5.2 การประเมินรอยโรคกีบอักเสบ

ประเมินรอยโรคกีบอักเสบจากรอยโรคตกเลือดที่พื้นกีบ (hemorrhage of sole) และ ที่รอยต่อระหว่างพื้นกีบกับผนังกีบ (hemorrhage of white line) การประเมินรอยโรคกีบอักเสบใช้ เกณฑ์ของ Fjeldaas et al. (2007) โดยแบ่งเป็น 4 ระดับ คะแนน 0 ไม่พบรอยโรค คะแนน 1 พบรอย โรคตกเลือดที่พื้นกีบหรือรอยต่อระหว่างพื้นกีบกับผนังกีบเพียงเล็กน้อยไม่เกิน 20 เปอร์เซ็นต์ของ พื้นที่ คะแนน 2 พบรอยโรคตกเลือดที่พื้นกีบหรือรอยต่อระหว่างพื้นกีบกับผนังกีบมากกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ และคะแนน 3 พบรอยโรคตกเลือดที่พื้นกีบหรือรอยต่อ ระหว่างพื้นกีบกับผนังกีบมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ ในขณะที่โคที่พบรอยโรคก่อความ เสียหายกับเนื้อเยื่อกีบ เช่น แผลหลุมที่พื้นกีบ แผลที่รอยต่อระหว่างพื้นกีบกับผนังกีบ พื้นกีบสอง ชั้น จะถูกจัดอยู่ในกลุ่มพบรอยโรคที่เนื้อเยื่อกีบ

3.1.5.3 การบันทึกข้อมูล

1. ข้อมูลประจำตัวโค หมายเลขประจำตัวโค วันเดือนปีเกิด สายพันธุ์ จำนวนลูกที่ให้หรือจำนวนครั้งที่รีดนม (lactation) จำนวนวันรีดนม ณ วันปาดแต่งกีบ (days in milk)
2. บันทึกข้อมูลการจัดการอาหาร พื้นคอกโรงเรือน การจัดการสุขภาพกีบ
3. บันทึกข้อมูลระบบสืบพันธุ์รายตัว คือ วันคลอดลูกครั้งสุดท้าย วันคลอด ลูกครั้งก่อนครั้งสุดท้าย วันผสมเทียมทุกครั้ง วันผสมครั้งสุดท้ายที่ทำให้ตั้งท้อง ผลการตรวจท้อง วันคลอดลูก

3.1.6 การคำนวณค่าดัชนีทางการสืบพันธุ์ (reproductive performance indices)

ใช้บันทึกข้อมูลระบบสืบพันธุ์รายตัวคำนวณตามวิธีของ ปรียพันธุ์ อุดมประเสริฐ (2537) สุณีรัตน์ เอี่ยมละมัย (2553) Brand et al. (1997) โดยคำนวณค่าต่างๆ ดังนี้

3.1.6.1 ระยะห่างวันคลอดถึงวันผสมครั้งแรก (calving to first service interval; CFS)

หมายถึง จำนวนวันหลังคลอดถึงวันที่ได้รับการผสมครั้งแรกหลังจากคลอด
= นับจำนวนวันตั้งแต่วันคลอดลูกครั้งล่าสุด ถึงวันผสมครั้งแรกหลังคลอด

3.1.6.2 ค่ำระยะห่างวันคลอดถึงวันผสมติด (calving to first service interval; CCI)

หมายถึง จำนวนวันหลังคลอดถึงวันที่โคได้รับการผสมครั้งสุดท้ายที่ตั้งท้อง
= นับจำนวนวันตั้งแต่วันคลอดลูกครั้งล่าสุด ถึงวันที่ผสมครั้งสุดท้ายที่ทำให้เกิดการตั้งท้อง (ประเมินการตั้งท้องจากการไม่กลับสัด 56 วัน หลังผสมครั้งสุดท้าย)

3.1.6.3 ค่ำระยะห่างวันคลอดลูก (calving interval; CI)

หมายถึง จำนวนวันระหว่างการคลอดลูกครั้งล่าสุดกับการคลอดลูกครั้งก่อนครั้งล่าสุด หรือการคลอดลูกครั้งถัดไป

= นับจำนวนวันตั้งแต่คลอดลูกครั้งก่อนล่าสุดถึงคลอดลูกครั้งล่าสุด

3.1.6.4 จำนวนครั้งที่ผสมต่อการตั้งท้อง (number of service per conception)

หมายถึง จำนวนครั้งของการผสมในโคที่เกิดการตั้งท้อง

= ผลรวมของจำนวนครั้งในการผสม (โคที่ตั้งท้อง)

= $\frac{\text{ผลรวมของจำนวนครั้งในการผสม (โคที่ตั้งท้อง)}}{\text{จำนวนโคที่ตั้งท้อง}}$

จำนวนโคที่ตั้งท้อง

3.1.6.5 อัตราการผสมติดครั้งแรก (first service conception rate)

หมายถึง สัดส่วนโคหรือเปอร์เซ็นต์ของโคที่เกิดการตั้งท้องจากการผสมครั้งแรก จากจำนวนโคทั้งหมดที่ได้รับการผสมครั้งแรก

= $\frac{\text{จำนวนโคที่ตั้งท้องจากการผสมครั้งแรก}}{\text{จำนวนโคทั้งหมดที่ได้รับการผสมครั้งแรก}} \times 100$

จำนวนโคทั้งหมดที่ได้รับการผสมครั้งแรก

3.1.7 การวิเคราะห์ข้อมูล

จัดแบ่งข้อมูลเป็น กลุ่มปกติ (มีคะแนนรอยโรคกิบอักเสบเท่ากับ 0) กลุ่มรอยโรคตกเลือดที่พื้นกิบเพียงเล็กน้อย (มีคะแนนรอยโรคกิบอักเสบเท่ากับ 1) กลุ่มกิบอักเสบแบบไม่แสดงอาการ (มีคะแนนรอยโรคกิบอักเสบเท่ากับ 2 และ 3) ทำการวิเคราะห์หาความชุก (prevalence) ในแต่ละกลุ่ม การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม SPSS version 17 โดยวิเคราะห์ ดังนี้

3.1.7.1 ปัจจัยจากตัวโค และปัจจัยจากการจัดการกับการพบกิบอักเสบ

เปรียบเทียบความแตกต่างของลำดับท้อง วิเคราะห์ด้วยวิธี Kruskal Wallis Test อายุ จำนวนวันริदनม และปริมาณน้ำนม วิเคราะห์ด้วยวิธี One-way ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มการทดลองโดยวิธี Least significance difference (LSD) test

ใช้สถิติเชิงพรรณนารายงาน ร้อยละของโคที่พบภาวะกีบอักเสบในแต่ละปีจ้ย วิเคราะห์ปัจจัยการจัดการอาหารและลักษณะของพื้นคอก ต่อการพบรอยโรคกีบอักเสบ ด้วยชุดคำสั่ง PROC GENMOD (SAS version 10.6) โดยใช้ตัวแบบ Generalized Estimating Equation (GEE) ที่มีการวัดซ้ำภายในข้อมูล (repeated measurement)

3.1.7.2 ความสัมพันธ์ระหว่างภาวะกีบอักเสบกับความสมบูรณ์พันธุ์

แบ่งเป็นกลุ่มที่ไม่พบภาวะกีบอักเสบ (คะแนนรอยโรคกีบอักเสบเท่ากับ 0 และ 1) และกลุ่มที่พบภาวะกีบอักเสบ (มีคะแนนรอยโรคกีบอักเสบเท่ากับ 2 และ 3) วิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่าง ระยะห่างวันคลอดถึงวันผสมครั้งแรก ระยะห่างวันคลอดถึงวันผสมติด และระยะห่างวันคลอดลูก โดยข้อมูลที่มีการกระจายตัวแบบไม่ปกติจะถูกแปลงข้อมูลด้วยค่า natural logarithm และวิเคราะห์ด้วยวิธี Student's T test จำนวนครั้งที่ผสมต่อการตั้งท้องระหว่างกลุ่ม วิเคราะห์ด้วยวิธี Mann-Whitney U Test

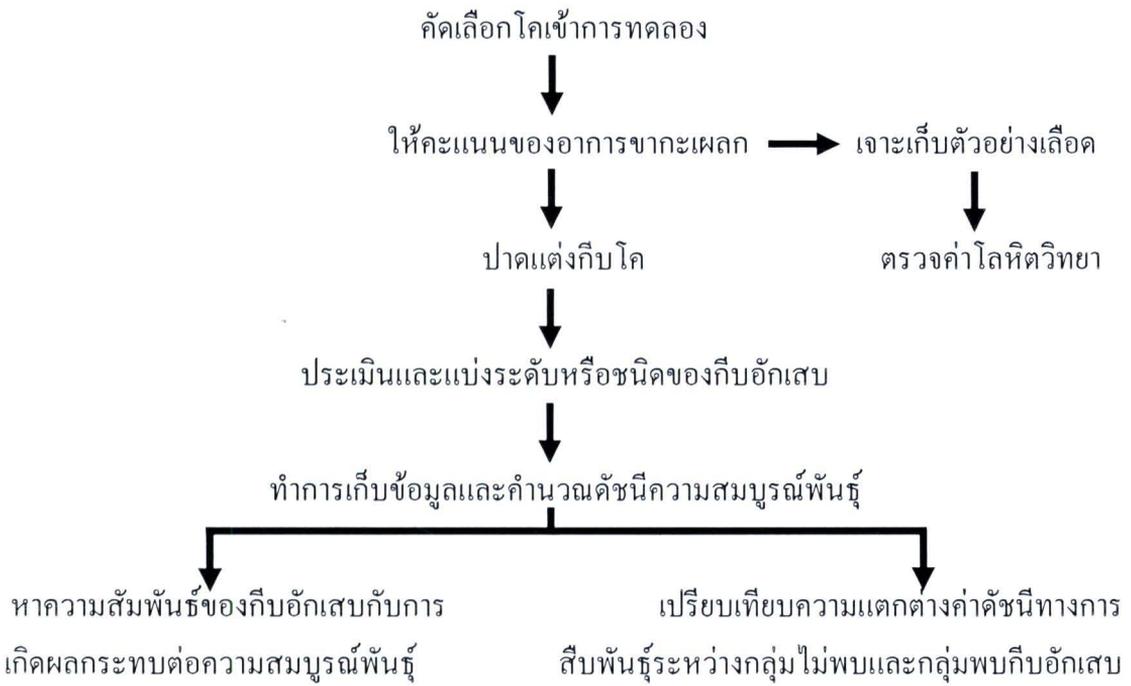
วิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงจากภาวะกีบอักเสบที่มีผล ต่อระยะห่างวันคลอดถึงวันผสมครั้งแรก ระยะห่างวันคลอดถึงวันผสมติด ระยะห่างวันคลอดลูก และอัตราการผสมติดครั้งแรก ด้วยวิธี Binary logistic regression

3.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของภาวะกีบอักเสบต่อความสมบูรณ์พันธุ์ในฟาร์มโคนมขนาดใหญ่

3.2.1 แผนการวิจัย

เป็นการศึกษาภาวะกีบอักเสบจากรอยโรคที่พื้นกีบ โดยการปาดแต่งกีบโคและประเมินรอยโรคกีบอักเสบหลังจากการปาดแต่งกีบ แบ่งเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มปกติ กลุ่มพบรอยโรคตกเลือดที่พื้นกีบเพียงเล็กน้อย กลุ่มกีบอักเสบแบบไม่แสดงอาการ และกลุ่มพบรอยโรคที่เนื้อเยื่อกีบ จำนวนที่พบในแต่ละกลุ่มนำมาวิเคราะห์หาความชุกของกีบอักเสบในฟาร์มที่ทำการศึกษา เก็บตัวอย่างเลือดในวันที่สัตว์เข้าการศึกษาเพื่อตรวจค่าทางโลหิตวิทยา

บันทึกข้อมูลโครายตัวและข้อมูลระบบสืบพันธุ์ โดยข้อมูลระบบสืบพันธุ์บันทึกย้อนหลังจนถึงวันคลอดครั้งล่าสุด (retrospective study) และติดตามข้อมูลไปข้างหน้า (cohort study) จนถึงผสมติดและตั้งท้อง หรือ 200 วันหลังจากคลอดลูก ประเมินความสมบูรณ์พันธุ์โดยคำนวณค่าดัชนีทางการสืบพันธุ์รายตัว วิเคราะห์หาผลกระทบของภาวะกีบอักเสบต่อความสมบูรณ์พันธุ์ โดยหาความสัมพันธ์ระหว่างกีบอักเสบกับค่าดัชนีทางการสืบพันธุ์ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าดัชนีทางการสืบพันธุ์ โดยแบ่งเป็นกลุ่มที่ไม่พบและพบภาวะกีบอักเสบ แผนการศึกษาแสดงในภาพที่ 3.2



ภาพที่ 3.2 แผนการวิจัยการทดลองที่ 2

3.2.2 เกณฑ์การวิจัย

3.2.2.1 การเลือกฟาร์มเลี้ยงโคนม

1. ทำการศึกษาในฟาร์มขนาดใหญ่ จำนวน 1 ฟาร์ม
2. เป็นฟาร์มเลี้ยงโคนมของเกษตรกร ที่มีแม่โครีดนม 300 แม่รีดขึ้นไป
3. เป็นฟาร์มที่ทำการศึกษาเป็นระยะเวลาไม่น้อยกว่า 3 ปี
4. เป็นฟาร์มที่มีการจัดเก็บข้อมูลทางการสืบพันธุ์ของโคนมที่ต้องการได้

สมบูรณ์

3.2.2.2 การคัดเลือกสัตว์ทดลอง

1. เป็นโคนมเพศเมียตั้งแต่ท้องที่ 1 ขึ้นไป
2. สุ่มเลือกโคนมเพื่อเข้าทำการศึกษา จำนวนโคที่เข้าศึกษาคำนวณโดยใช้

โปรแกรม winepiscope version 2.0 กำหนดความชุก (expected prevalence) ของกีบอักเสบที่ร้อยละ 30 ความคลาดเคลื่อนที่ร้อยละ 5 และช่วงเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95

3. โคนมทุกตัวที่ถูกสุ่มเข้าการศึกษามีระยะเวลาให้นม (day in milk, DIM)

ในช่วง 50-150 วันรีดนม

4. โคนมที่ใช้ในการศึกษามีการบันทึกข้อมูลทางการสืบพันธุ์ที่สมบูรณ์

5. โคนมที่ใช้ในการศึกษา เป็นพันธุ์โฮสไตน์ฟรีเซียนสายเลือดร้อยละ 82.5

6. โคทุกตัวอยู่ในกลุ่มโครีดนมที่มีสุขภาพดี โคที่ถูกสุ่มเลือกไม่มีปัญหา

สุขภาพ ไม่มีประวัติเด้านมอักเสบและขาเจ็บ

3.2.2.3 การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกข้อมูลประจำตัวโคและข้อมูลระบบสืบพันธุ์รายตัว

2. ข้อมูลระบบสืบพันธุ์บันทึกย้อนหลังจนถึงวันคลอดครั้งล่าสุดและติดตามข้อมูลระบบสืบพันธุ์ไปยังหน้าจนถึงผสมติดตั้งท้องและติดตามโคทุกตัวถึง 200 วันหลังจากคลอด

3.2.2.4 การเลี้ยงและดูแลสัตว์ทดลอง

โคทุกตัวถูกเลี้ยงในระบบโรงเรือนเปิดมีพื้นที่อิสระให้เดินในคอก (loose-housing system) พื้นคอก พื้นรางอาหารและพื้นโรงรีดนมเป็นคอนกรีต ได้รับอาหารชั้น ที่มีคุณค่าของโภชนะ โปรตีนหยาบ (Crude protein) 18.57 % และพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (ME) 3.08 Mcal/kgDM (Wachirapakorn, 2003) แบ่งจ่าย 4 มื้อต่อวัน ปริมาณการให้ตามอัตราส่วนกิโกรัม อาหารต่อปริมาณน้ำนม เท่ากับ 1 ต่อ 2 ในปริมาณไม่เกิน 10 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน ได้รับข้าวโพดหมักปริมาณเฉลี่ย 25 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน หญ้าแห้ง ปริมาณเฉลี่ย 1 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน มีบ่อจุ่มกีบบริเวณทางเดินเข้าออกโรงเรือน ใช้ฟอร์มาลิน (formalin) ผสมในบ่อจุ่มกีบอัตราส่วนร้อยละ 5 โปรแกรมการใช้บ่อจุ่มกีบ ใช้ในกรณีที่พบอุบัติการณ์ปัญหาสุขภาพกีบสูง

3.2.3 สถานที่ทำการวิจัย

ฟาร์มโคนมขนาดใหญ่ที่มีจำนวนแม่โครีดนม 480 ตัว พื้นที่อำเภอครบุรี จังหวัดนครราชสีมา

ตรวจค่าโลหิตวิทยาจากตัวอย่างเลือด ณ ห้องปฏิบัติการชันสูตรโรคสัตว์ โรงพยาบาลสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

3.2.4 ระยะเวลาในการวิจัย

ศึกษาภาวะกีบอักเสบโดยประเมินรอยโรคกีบอักเสบหลังจากการปลดแต่งกีบ ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2552 ถึง เดือนมกราคม 2553 และติดตามบันทึกข้อมูลระบบสืบพันธุ์ เดือนกุมภาพันธ์ ถึง เดือนกรกฎาคม 2553

3.2.5 วิธีดำเนินการวิจัย

3.2.5.1 ให้คะแนนอาการขาเกเฟลก (lameness score)

ก่อนทำการปลดแต่งกีบในขณะที่โคเดินมายังช่องปลดแต่งกีบ จะทำการประเมินให้คะแนนอาการขาเกเฟลกโดยใช้เกณฑ์ที่อ้างอิงจาก Sprecher et al. (1997) ดังแสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 เกณฑ์การให้คะแนนอาการขาอะเพลก

คะแนนอาการ ขาอะเพลก	อาการ	เกณฑ์การประเมิน
1	ปกติ	แนวสันหลังตรงทั้งเวลาขึ้นและเดิน ลักษณะการเดินปกติ
2	ขาอะเพลก เล็กน้อย	แนวสันหลังตรงเวลาขึ้นแต่หลังโค้งเวลาเดิน ลักษณะการเดิน ยังคงปกติ
3	ขาอะเพลก ปานกลาง	แนวสันหลังโค้งทั้งเวลาขึ้นและเดิน ลักษณะการเดินมีการก้าว ขาที่สั้นลงในขาข้างที่เจ็บ
4	ขาอะเพลก	แนวสันหลังโค้งทั้งเวลาขึ้นและเดิน ลักษณะการเดินมีอาการ กะเผลกที่ชัดเจน
5	ขาอะเพลก รุนแรง	โคแสดงอาการไม่ลงน้ำหนักในขาข้างที่เจ็บอย่างชัดเจน

(Sprecher et al., 1997)

โคที่มีคะแนนอาการขาอะเพลกมากกว่า 2 ขึ้นไปจัดเป็นโคที่มีอาการขาอะเพลก

3.2.5.2 การเก็บตัวอย่างเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำใหญ่ที่คอ (jugular vein) โดยใช้กระบอก
ฉีดยาขนาด 20 มิลลิลิตร และเข็มฉีดยาเบอร์ 18 ความยาว 1 นิ้ว เก็บตัวอย่างเลือดในหลอดเก็บเลือด
พลาสติกชนิดสุญญากาศ (vacuum tube) (vacuette[®]) แบบที่เก็บซีรัมและแบบที่ผสมสารกันแข็งตัว
ของเลือด (K₃EDTA) ปริมาณหลอดละ 9 มิลลิลิตร แห่เย็นหลอดเก็บเลือดในกล่องเก็บความเย็นที่
อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส และส่งตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจทางห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมง

3.2.5.3 การปาดแต่งกีบ

ทำการปาดแต่งกีบโคในของบั้งค้ำที่สามารถปรับระดับได้ วิธีการปาดแต่ง
กีบใช้วิธีเหมือนข้อ 3.1.5.1

3.2.5.4 การประเมินรอยโรคกีบอักเสบ

ใช้วิธีเหมือนข้อ 3.1.5.2 และบันทึกในแบบฟอร์มรอยโรคกีบอักเสบ (ภาพ
ผนวกที่ 5)



3.2.5.5 การบันทึกข้อมูล

1. ข้อมูลประจำตัวโค หมายเลขประจำตัวโค วันเดือนปีเกิด สายพันธุ์ จำนวนลูกที่ให้หรือจำนวนครั้งที่รีดนม (lactation) จำนวนวันรีดนม ณ วันปลดแท่งก๊ีบ (days in milk) บันทึกจากโปรแกรมข้อมูลประจำฟาร์ม (Microsoft excel version 2003)

2. บันทึกข้อมูลระบบสืบพันธุ์รายตัว คือ วันคลอดลูกครั้งสุดท้าย วันคลอดลูกครั้งก่อนครั้งสุดท้าย วันเป็นสัดครั้งแรกหลังคลอด วันผสมเทียมทุกครั้ง วันผสมครั้งสุดท้ายที่ทำให้ตั้งท้อง ผลการตรวจท้อง วันกำหนดคลอดลูก

3.2.6 การตรวจตัวอย่างทางห้องปฏิบัติการ

ตรวจค่าโลหิตวิทยาจากตัวอย่างเลือด ที่เก็บในหลอดที่ผสมสารกันแข็งตัวของเลือด โดยเครื่องวิเคราะห์ (Diatron[®], abacus) ใช้โหมดการตรวจเม็ดเลือดสัตว์ชนิด โค ตรวจนับค่า จำนวนเม็ดเลือดขาว (white blood cell) จำนวนเม็ดเลือดแดง (red blood cell) ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (pack cell volume, hematocrit, PCV) ปริมาณฮีโมโกลบินในเลือด จำนวนเม็ดเลือดขาวชนิด นิวโทรฟิล (neutrophil) ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) และ โมโนไซต์ (monocyte) จำนวนเกล็ดเลือด (platelet)

3.2.7 การคำนวณค่าดัชนีทางการสืบพันธุ์ (reproductive performance indices)

ใช้บันทึกข้อมูลระบบสืบพันธุ์รายตัวคำนวณตามวิธีของ ปรียพันธุ์ อุดมประเสริฐ (2537) สุณีรัตน์ เอี่ยมละมัย (2553) และ Brand et al. (1997) โดยคำนวณค่าต่างๆ ดังนี้

3.2.7.1 ระยะห่างวันคลอดถึงวันผสมครั้งแรก ระยะห่างวันคลอดถึงวันผสมติด ระยะห่างวันคลอดลูก จำนวนครั้งที่ผสมต่อการตั้งท้อง อัตราการผสมติดครั้งแรก ใช้วิธีเหมือนข้อ 3.1.6.1-3.1.6.5

3.2.7.2 ระยะห่างวันคลอดถึงวันเป็นสัดครั้งแรก (calving to first estrus interval)

หมายถึง จำนวนวันหลังคลอดถึงวันที่โคเป็นสัดครั้งแรกหลังจากโคคลอดลูก
= นับจำนวนวันตั้งแต่วันคลอดลูกครั้งล่าสุดถึงวันเป็น สัดครั้งแรกหลังคลอด

3.2.7.3 อัตราการตั้งท้อง (pregnancy rate)

หมายถึง สัดส่วนโคหรือเปอร์เซ็นต์ของโคที่เกิดการตั้งท้องจากจำนวนครั้งที่ผสมทั้งหมดในแต่ละกลุ่ม

$$= \frac{\text{จำนวนโคที่ตั้งท้อง}}{\text{จำนวนครั้งที่ผสมทั้งหมด}} \times 100$$

3.2.8 การวิเคราะห์ข้อมูล

จัดแบ่งข้อมูลเป็น กลุ่มปกติ (มีคะแนนรอยโรคกึ่งอักเสบเท่ากับ 0) กลุ่มรอยโรคตกเลือดที่พื้นกึ่งเพียงเล็กน้อย (มีคะแนนรอยโรคกึ่งอักเสบเท่ากับ 1) กลุ่มกึ่งอักเสบแบบไม่แสดงอาการ (มีคะแนนรอยโรคกึ่งอักเสบเท่ากับ 2 และ 3) และกลุ่มพบรอยโรคที่เนื้อเยื่อกึ่ง ทำการวิเคราะห์หาความชุก (prevalence) ในแต่ละกลุ่ม การวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดโดยโปรแกรม SPSS version 17 โดยวิเคราะห์ ดังนี้

3.2.8.1 คะแนนซากะเพลก

ใช้สถิติเชิงพรรณนารายงาน ร้อยละของโคในแต่ละระดับคะแนนอาการซากะเพลก โดยจำแนกตามกลุ่มปกติ กลุ่มรอยโรคตกเลือดที่พื้นกึ่งเพียงเล็กน้อย กลุ่มกึ่งอักเสบแบบไม่แสดงอาการ และกลุ่มพบรอยโรคที่เนื้อเยื่อกึ่ง

3.2.8.2 รอยโรคที่กึ่ง

จำนวนรอยโรคที่กึ่งใช้สถิติเชิงพรรณนารายงาน ร้อยละของรอยโรคที่พบในแต่ละกึ่งของกลุ่มการศึกษา

3.2.8.3 ปีจัยจากลำดับท้อง อายุ และจำนวนวันรีดนมกับการพบกึ่งอักเสบ

เปรียบเทียบความแตกต่างของลำดับท้อง อายุ วิเคราะห์ด้วยวิธี Kruskal Wallis Test อายุและจำนวนวันรีดนม วิเคราะห์ด้วยวิธี One-way ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มการทดลองโดยวิธี Least significance difference (LSD) test

3.2.8.4 ความสัมพันธ์ระหว่างภาวะกึ่งอักเสบกับความสมบูรณ์พันธุ์

แบ่งเป็นกลุ่มที่ไม่พบภาวะกึ่งอักเสบ (คะแนนรอยโรคกึ่งอักเสบเท่ากับ 0 และ 1) และกลุ่มที่พบภาวะกึ่งอักเสบ (มีคะแนนรอยโรคกึ่งอักเสบเท่ากับ 2, 3 และกลุ่มพบรอยโรคที่เนื้อเยื่อกึ่ง) วิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่าง ค่าระยะห่างวันคลอดถึงวันเป็นสัดครั้งแรก ระยะห่างวันคลอดถึงวันผสมครั้งแรก ระยะห่างวันคลอดถึงวันผสมติด และระยะห่างวันคลอดถึงคลอดลูก โดยข้อมูลที่มีการกระจายตัวแบบไม่ปกติจะถูกแปลงข้อมูลด้วยค่า natural logarithm และวิเคราะห์ด้วยวิธี Student's T test จำนวนครั้งที่ผสมและจำนวนครั้งที่ผสมต่อการตั้งท้องระหว่างกลุ่ม วิเคราะห์ด้วยวิธี Mann-Whitney U Test

วิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงจากภาวะกึ่งอักเสบที่มีผล ต่อระยะห่างวันคลอดถึงวันเป็นสัดครั้งแรก ระยะห่างวันคลอดถึงวันผสมครั้งแรก ระยะห่างวันคลอดถึงวันผสมติด ระยะห่างวันคลอดถึงคลอดลูก อัตราการตั้งท้อง และอัตราการผสมติดครั้งแรก ด้วยวิธี Binary logistic regression

3.2.8.5 ค่าโลहितวิทยา

วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าโลहितวิทยา กับค่าสูงสุดของค่ามาตรฐาน (Jain, 1993) ด้วยวิธี One sample T-test เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าโลहितวิทยาระหว่างกลุ่ม โดยข้อมูลที่มีการกระจายตัวแบบไม่ปกติจะถูกแปลงข้อมูลด้วยค่า natural logarithm และวิเคราะห์ด้วยวิธี One-way ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มการทดลองโดยวิธี LSD test