บทที่ 1
วิธีดำเนินการวิจัย

1.1 สัตว์ทดลอง

สัตว์ทดลองที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือโคนมพันธุ์โฮลสไตน์-ฟรีเซี่ยน (Holstein-Friesian) พันธุ์แท้เลือด 100 เปอร์เซ็นต์ อายุระหว่าง 6 - 7 ปี เกิดในประเทศออสเตรเลีย นำเข้ามาในประเทศไทยเมื่ออยู่ในระยะโคสาว จำนวน 6 ตัว และโคนมลูกผสมโฮลสไตน์-ฟรีเซี่ยน 50 เปอร์เซ็นต์ อายุระหว่าง 4 - 5 ปี เกิดในประเทศไทยที่ องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย (อสค.) จังหวัดสระบุรี จำนวน 14 ตัว ซึ่งการทดลองได้ควบคุมการให้อาหารชนิดเดียวกัน คือ หญ้าสด และเสริมด้วยอาหารข้น ในช่วงก่อนและหลังคลอด

1.2 สถานที่ทำการทดลอง

สถานที่เก็บข้อมูลพื้นฐานได้แก่สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรสกลนคร สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล อำเภอพังโคน จังหวัดสกลนครและ ฟาร์มโคนมไทย-เดนมาร์ก องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย (อสค.) อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี

สถานที่วิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา ห้องปฏิบัติการสรีรวิทยา ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สถานที่วิเคราะห์ค่าส่วนประกอบทางชีวเคมีของโลหิต หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ โรงพยาบาลสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

1.3 การเก็บตัวอย่างเลือด

1.3.1 การแบ่งช่วงเวลาการเก็บตัวอย่างเลือด ช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่างเลือด โคนมพันธุ์แท้ แบ่งออกได้ ดังนี้

1. ช่วงเวลาการเก็บตัวอย่างที่ 1 (S1) เก็บตัวอย่างเลือดก่อนโคคลอด 20 - 40 วัน
2. ช่วงเวลาการเก็บตัวอย่างที่ 2 (S2) เก็บตัวอย่างเลือดหลังจากโคคลอด 50 - 70 วัน
3. ช่วงเวลาการเก็บตัวอย่างที่ 3 (S3) เก็บตัวอย่างเลือดหลังจากโคคลอด 80 - 100 วัน
4. ช่วงเวลาการเก็บตัวอย่างที่ 4 (S4) เก็บตัวอย่างเลือดหลังจากโคคลอด 110-160 วัน

สำหรับการเก็บตัวอย่างเลือดโคนมลูกผสมโฮลสไตน์-ฟรีเซี่ยน ทำการเริ่มเก็บตัวอย่างเลือดเหมือนกับในช่วง S2 และ S3 ของโคนมพันธุ์แท้

1.3.2 เวลาในการเก็บตัวอย่างเลือด

การเก็บตัวอย่างเลือดจากโคนมพันธุ์แท้ทุกครั้ง เก็บในเวลาที่ใกล้เคียงกันตลอดการทดลอง โดยเก็บเวลา 08.00 น ถึง 09.00 น. ในแต่ละช่วงเวลาการเก็บตัวอย่างมีระยะเวลาห่างกันนานประมาณ 30 วัน ยกเว้นในช่วงเวลาการเก็บตัวอย่างที่ 3 (S3) กับช่วงเวลาการเก็บตัวอย่างที่ 4 (S4) มีระยะเวลาห่างกันนานประมาณ 65 วัน แต่ละช่วงการเก็บตัวอย่างมีระยะเวลา 20 วัน ทั้งนี้เนื่องจากโคเริ่มตั้งท้อง และคลอดในเวลาที่ไม่พร้อมกัน เมื่อเดินทางไปเก็บตัวอย่าง จะทำการเก็บตัวอย่างเลือดจากโคทั้ง 6 ตัวพร้อมกัน เนื่องจากปัญหาในการเดินทาง ทำให้ไม่สามารถเดินทางหลายครั้งเพื่อเก็บตัวอย่างเลือดจากโคทีละตัวได้ การเก็บตัวอย่างเลือดจากโคนมลูกผสมที่ อสค. อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี ก็ทำการเก็บในลักษณะเดียวกัน

1.3.3 วิธีการเก็บตัวอย่างเลือด

ก. การเตรียมหลอดทดลองสำหรับเก็บตัวอย่างเลือด โคแต่ละตัวจะมีหลอดทดลองสำหรับเก็บตัวอย่างเลือดขนาด 5-10 ซี.ซี. พร้อมจุกยาง 3 หลอดคือ

1. หลอดสำหรับเก็บตัวอย่างเลือด เพื่อวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยาแตรียมโดยใส่เฮปปาริน (Heparin) 1,000 I.U./ml จำนวน 1-2 หยด เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด

2. หลอดสำหรับเก็บตัวอย่างเลือด เพื่อวิเคราะห์ค่า กลูโคส (Glucose) เตรียมโดยใส่ผงโซเดียมฟลูออไรด์ (NaF) ปริมาณเท่ากับหัวไม้ขีดไฟเพื่อรักษาระดับของกลูโคสให้คงที่ (ยับยั้ง glycolysis ของเม็ดเลือดแดง)

3. หลอดสำหรับเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อวิเคราะห์ค่าแคลเซี่ยม (Ca) ฟอสฟอรัส (PO_4) ยูเรียในเลือด (BUN) และโคเรสเตอรอล (Cholesterol) เตรียมโดยไม่ใส่สารใด ๆ เป็นหลอดทดลองที่เป็นสูญญากาศ (No Additive Vacutainer Tube) หรือ หลอดทดลอง ธรรมดาที่สะอาด

ข. ขั้นตอนในการเก็บตัวอย่างเลือด

1. เตรียมกระติกน้ำแข็ง เข็มเหล็กเบอร์ 18 ยาว 1 1/2 นิ้ว เข็มสองทาง แอลกฮอล์ 75 เปอร์เซ็นต์ สำลี หลอดเก็บตัวอย่างเลือด

2. ใช้สำลีชุบแอลกอฮอล์ 75เปอร์เซ็นต์ เช็ดทำความสะอาดผิวหนังบริเวณที่จะเจาะเลือด

3. เจาะเก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำใหญ่ที่คอ (Jugular vein) หรือเส้นเลือดดำที่โคนหาง (Tail vein) ถ้าเป็นหลอดสูญญากาศให้ เจาะเก็บตัวอย่างโดยใช้เข็มสองทาง เก็บตัวอย่างเลือดโดยไม่ต้องเปิดจุกยางใช้เข็มแทงทะลุจุกยางเข้าไปภายในหลอด ในแต่ละหลอดจะเก็บตัวอย่างเลือดประมาณ 5 ซี.ซี ปิดจุกยางให้เรียบร้อย

4. หลอดตัวอย่างเลือดเพื่อวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา และกลูโคสให้ทำการเอียงหลอดไปมา 7-8 ครั้ง เพื่อให้เลือด ผสมเข้ากันดีกับเฮปปาริน (Heparin) และผงโซเดียมฟลูออไรด์ (NaF)

5. นำหลอดที่เก็บตัวอย่างเลือดแล้ว เก็บไว้ในกระติกน้ำแข็งทันที

6. ตัวอย่างเลือดเพื่อวิเคราะห์กลูโคส ต้องตรวจวิเคราะห์ภายใน 6 ชั่วโมง หลังจากที่เก็บแล้ว ถ้าหากไม่สามารถวิเคราะห์ได้ภายในเวลาที่กำหนดจะต้องปั่นแยกเอาเฉพาะส่วนของซีรั่มเก็บไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส เพื่อตรวจวิเคราะห์ต่อไป

7.ตัวอย่างเลือดเพื่อวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา และค่าส่วนประกอบ ทางชีวเคมีอื่น ๆ ให้เก็บไว้ในตู้เย็น หรือที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส เพื่อตรวจวิเคราะห์ต่อไป

1.4 การเก็บตัวอย่างค่าสังเกตอื่น ๆ

ก. อัตราการหายใจ (Respiration rate,RR) นับจังหวะการหายใจ โดยสังเกตจากการเคลื่อนไหวของสวาป จับเวลา 60 วินาที นับ 3 ครั้ง นำมาหาค่าเฉลี่ย

ข. อัตราการเต้นชีพจร (Pulse rate,PR) นับจังหวะการเต้นของชีพจร โดยการจับเส้นเลือดที่บริเวณโคนหาง จับเวลา 60 วินาที นับ 3 ครั้ง นำมาหาค่าเฉลี่ย

ค. การให้คะแนนการคลอด (Dystocia score) ดูจากความยากง่ายในการคลอด โดยกำหนดคะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน 1 หมายถึงโคคลอดง่ายที่สุด (คลอดปกติ) คะแนน 2 หมายถึง คลอดง่ายปานกลาง คะแนน 3 หมายถึง คลอดค่อนข้างยาก คะแนน 4 หมายถึง คลอดยากจำเป็นต้องมีการช่วยคลอด คะแนน 5 หมายถึง โคคลอดยากมากไม่สามารถช่วยคลอดได้

ง. การขับรกออกหลังคลอด ดูจากระยะเวลาที่โคใช้ขับรกออกมาหลังจากที่คลอดลูกแล้ว โดยถ้าใช้เวลาไม่เกิน 12 ชั่วโมง ถือว่ารกออกปกติ ถ้าใช้เวลามากกว่า 12ชั่วโมง ถือว่ารกค้าง

จ. การตรวจการเข้าอู่ของมดลูก ทำการล้วงตรวจดูการเข้าอู่ของมดลูกหลังจากที่โคคลอดลูก ทุก ๆ 7 วัน สังเกตได้จากมดลูกมีขนาดเล็กลงกว่าเดิมและหดเข้าไปอยู่ในตำแหน่งปกติเหมือนสภาพก่อนการตั้งท้อง(พีระศักดิ์และคณะ,2523 อ้างโดย ศักดิ์สิทธิ์,2527)

ฉ. คะแนนร่างกาย (Body Condition Score,BSC) โดยจดบันทึกคะแนนร่างกายของโคก่อนคลอด ประมาณ 30 วัน และหลังจากที่คลอดลูกแล้วประมาณ 120 วัน โดยพิจารณาจากบริเวณ แนวกระดูกสันหลัง(Transverse processes of loin vertebrae) โคนหาง (Tail head) และกระดูก Pin bones กำหนดคะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน 1 หมายถึง ผอมมาก คะแนน 2 หมายถึง ค่อนข้างผอม คะแนน 3 หมายถึง ปานกลาง คะแนน 4 หมายถึง ค่อนข้างอ้วน คะแนน 5 หมายถึง อ้วน (Agricultural Development and Advisory Service,1986)

ช. ประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ คำนวณหาประสิทธิภาพในการสืบพันธุ์ ที่สำคัญได้แก่ First Calving, Days Open, Calving interval และ Services per conception ของแม่โคแต่ละตัว และค่าเฉลี่ยของแม่โคทั้งหมด โดยใช้ข้อมูลจากบัตรประจำตัวโคนม

1.5 การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา

1.5.1 การหาค่าฮีมาโตคริต (Haematocrit, Hct) โดยวิธี Micro-haematocrit

วิธีการ

1. บรรจุเลือดเข้าหลอดแคพิลลารี (Capillary tube) โดยใช้ปลายหลอดแก้วด้านหนึ่งแตะเลือดที่อยู่ในหลอดทดลอง เอียงหลอดทดลองให้เลือดไหลเข้าไปในหลอดแก้วเอง บรรจุเลือดประมาณ 3 ใน 4 ส่วนของหลอด อุดปลายด้านที่แตะเลือดด้วยดินน้ำมัน ระวังอย่าให้มีฟองอากาศคั่นระหว่างเลือดกับดินน้ำมัน

2. นำหลอดแก้วซึ่งบรรจุเลือดเรียบร้อยแล้วเข้าเครื่องปั่นพิเศษ(International electric microhematocrit centrifuge) โดยให้ปลายด้านที่ปิดด้วยดินน้ำมันชิดกับขอบของเครื่องปั่นติดกับแผ่นยาง ปั่นนาน 5 นาที ความเร็วประมาณ 10,000 รอบต่อนาที

3. วัดความยาวของส่วนเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (คิดเทียบเป็นร้อยละของความยาวทั้งหมดของเลือด) กับมาตรวัดของเครื่องค่าที่ได้คือ ฮีมาโตคริต (Hct) มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ (%)

หมายเหตุ : ถ้าปั่นแล้วพบว่า น้ำใสส่วนบนมีสีแดง แสดงว่าเม็ดเลือดแดงแตกให้ทิ้งไปเพราะจะทำให้ค่าที่อ่านได้ต่ำกว่าความเป็นจริง

1.5.2 การหาค่าฮีโมโกลบิน (Haemoglobin, Hb) โดยวิธี Sahli-Hellige

วิธีการ

1. หยด 0.1 N. ของกรดเกลือไฮโดรคลอริก (HCl) 5 หยดลงในหลอดของเครื่อง Sahli Haemometer หรือจนถึงขีดต่ำสุด

2. ใช้ฮีโมโกลบินไปเปตดูดเลือดขึ้นมาจนถึงขีด 20 มม. เช็ดเลือดที่ปลายไปเปตด้วยสำลีหรือกระดาษนุ่ม ระวังอย่าให้มีฟองอากาศเกิดขึ้น พยายามปรับให้เลือดอยู่ที่ระดับขีด 20 มม.

3. จุ่มปลายไปเปตลงไปในกรดเกลือ เป่าพ่นเลือดออกจนหมด ดูดกรดเกลือนี้ขึ้นไปล้างไปเปต แล้วปล่อยออก ทำเช่นนี้ 2-3 ครั้ง ใช้แท่งแก้วคนให้เลือดและกรดเกลือเข้ากันดี

4. ตั้งทิ้งไว้ 4 นาทีจนฮีโมโกลบินกลายเป็น กรดฮีมาติน (Haematin) เติมน้ำกลั่นทีละหยดลงในหลอด คนทุกครั้งที่หยดน้ำกลั่นลงไป เปรียบเทียบสีของสารละลายในหลอด กับสีของแท่งแก้วมาตรฐานที่อยู่ข้างหลอดให้ได้สีที่เหมือนกัน

5. เมื่อเทียบสีได้เสมอกัน อ่านค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบินจากระดับขอบของเหลวในหลอดกับมาตรวัดที่ข้างหลอดมีหน่วยเป็นกรัมเปอร์เซ็นต์(g%)ของฮีโมโกลบิน ควรอ่านภายใน 5 นาที นับตั้งแต่หยดเลือดลงในกรด

1.5.3 การหาค่าโปรตีนในพลาสมา(Plasma protein)โดยวิธี Refractometer

วิธีการ

1. ใช้หลอดหยดดูดเอาเฉพาะส่วนของน้ำเลือด (Blood Plasma) ประมาณ 0.5 ซี.ซี.
2. หยดน้ำเลือดลงบน Refractometer 1-2 หยด
3. อ่านค่าโปรตีนจากมาตรวัดของเครื่อง มีหน่วยเป็นกรัมเปอร์เซ็นต์ (g%)

1.5.4 การนับจำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC) โดยวิธี Direct count

วิธีการ

1. ใช้ไปเปตสำหรับเม็ดเลือดแดงดูดเลือดขึ้นมาจนถึงขีด 0.5 เช็ดเลือดส่วนที่ติดปลายไปเปตออก

2. ดูดน้ำยาเจือจางเลือด Grower's Solution จนถึงขีด 101 เขย่าให้เลือดและน้ำยาเข้ากันดี โดยใช้นิ้วหัวแม่มือ และนิ้วชี้ปิดปลายทั้ง 2 ข้าง ของไปเปตเขย่าไปมาหลาย ๆ ครั้ง จนผสมเข้ากันดี

3. หยดน้ำยา 3-5 หยดแรกทิ้งไป เพราะเป็นส่วนที่ไม่มีเม็ดเลือดอยู่ จากนั้นหยดเลือดลงที่ขอบแผ่นแก้วนับเลือด (Hemocytometer chamber) โดยใช้ปลายไปเปตแตะที่ขอบของ Cover slip ค่อย ๆ ปล่อยสารละลายออกมา โดยอุดส่วนบนของไปเปตไว้ เพื่อให้ของเหลวในกระเปาะของไปเปตค่อย ๆ ไหลลงให้เต็มช่องพอดี

4. ทิ้งไว้ 2 นาทีเพื่อให้เซลเม็ดเลือดแดงกระจายตัว และนอนก้นเรียบร้อยจึงนับจำนวนโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ (Compound Microscope) ปรับกล้องจุลทรรศน์ ไปที่บริเวณพื้นที่จัตุรัสตรงกลาง ซึ่งเป็นบริเวณที่ใช้นับใช้กำลังขยาย 400 เท่า นับจำนวนเม็ดเลือดแดง ในบริเวณจัตุรัส 5 ช่องของพื้นที่ 1/25 มิลลิเมตร โดยนับขอบนอก 4 ช่อง และตรงกลาง 1 ช่อง (ภาพที่ 1) ในการนับเม็ดเลือดจะมีเม็ดเลือดบางส่วนติดอยู่ตามขอบของจัตุรัส นับเม็ดเลือดเหล่านั้นจาก 2 ด้านของจัตุรัส (ด้านขวาและด้านล่าง) อีก 2 ด้านไม่นับ (ด้านซ้าย และด้านบน) คำนวณจำนวนเม็ดเลือดแดงที่ไม่มีการเจือจาง ต่อ 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ได้ดังนี้ A = จำนวนเม็ดเลือดแดงที่นับได้

B = จำนวนเม็ดเลือดแดงต่อ 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร

ดังนั้น B = A x 10,000 เซล/ลูกบาศก์มิลลิเมตร

1.5.5 การนับจำนวนเม็ดเลือดขาว (WBC) โดยวิธี Direct count

วิธีการ

1. ใช้ไปเปตสำหรับเม็ดเลือดขาว ดูดเลือดถึงขีด 0.5 เช็ดเลือดส่วนที่ติดปลายไปเปตออก

2. ดูดน้ำยาเจือจางเลือด Turk's Solution จนถึงขีด 11 เขย่าให้เลือและน้ำยาเข้ากันดี โดยใช้นิ้วหัวแม่มือและนิ้วชี้ปิดปลายทั้งสองข้างของไปเปตเขย่าไปมาหลาย ๆ ครั้งจนผสมเข้ากันดี

3. หยดน้ำยา 3-5 หยดแรกทิ้งไป เพราะเป็นส่วนที่ไม่มีเม็ดเลือดอยู่ หยดลงที่แผ่นแก้วนับเม็ดเลือด (Hemocytometer chamber) โดยใช้ปลายไปเปตแตะที่ขอบของ Cover slip จากนั้นค่อย ๆ ปล่อยสาร ละลายออกมาโดยอุดส่วนบนของไปเปตไว้เพื่อให้ของเหลวในกระเปาะของไปเปตค่อย ๆ ไหลลงมาให้เต็มช่องพอดี

4. ทิ้งไว้ 2 นาที เพื่อให้เซลเม็ดเลือดขาวกระจายตัว และนอนก้นเรียบร้อย จึงนับจำนวนโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ (Compound Microscope) ปรับกล้องจุลทรรศน์ไปยังพื้นที่ทั้งหมด 9 ตารางมิลลิเมตร ใช้กำลังขยาย 100 เท่า นับจำนวนเม็ดเลือดขาวในช่องสี่เหลี่ยมจัตุรัส 4 มุม ซึ่งแต่ละอันมีพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร (ภาพที่ 1) คำนวณจำนวนเม็ดเลือดขาวที่ไม่มีการเจือจางต่อ 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ได้ดังนี้

A = จำนวนเม็ดเลือดขาวที่นับได้

B = จำนวนเม็ดเลือดขาวต่อ 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร

ดังนั้น B = A x 50 เซล/ลูกบาศก์มิลลิเมตร

1.6 การวิเคราะห์ค่าส่วนประกอบทางชีวเคมีของโลหิต โดยเครื่อง Reflotron

หลักการตรวจวัด

เมื่อหยด Whole blood ลงบนส่วน plasma Separating mat ของ Reagent carrier plasma จะถูกกรองผ่านลงไปอยู่ในส่วน plasma reservoir หลังจากนั้นเมื่อใส่ Reagent carrier นั้น เข้าไปในส่วน mesuring chamber ของเครื่อง เครื่องจะเริ่มอ่านข้อมูล และคำสั่งในแถบแม่เหล็กบน strip แล้วเริ่มทำงานโดยส่วน Reagent layer จะถูกกดให้ทับลงบนส่วน plasma Reservoir เริ่มทำปฏิกิริยาของการตรวจวัด ซึ่งจะได้ product ที่สามารถเปลี่ยนให้ Indicator เป็นสารสี (dye complex) ประมาณความเข้มข้นของสารที่วัด จะแปรตามความเข้มของสีที่เกิดขึ้นเมื่อครบเวลา ส่วน Detection part จะเริ่มทำงานโดย LEDs จะให้แสดงออกมา กระจายภายใน Ulbricht Sphere ที่มีผิวภายในมันสะท้อนแสงได้ดี แสงส่วนหนึ่งจะสะท้อนไปกระทบกับ Reference detector ซึ่งมันจะวัดความเข้มของแสงเป็น I_o ส่วน Measuring detector จะทำหน้าที่วัดความเข้มของแสง ส่วนที่สะท้อนมาจาก test area ซึ่งอยู่ส่วนล่างของ Ulbrich sphere โดยวัดเป็น I ค่า I ที่วัดได้นี้จะมีค่าน้อยกว่า I_o เนื่องจากสีของ Indicator ที่เกิดขึ้นบนแถบที่ Test area จะ Absorp แสงไว้ได้ส่วนหนึ่งก่อนที่จะสะท้อนออกไป และจะได้ค่า Reflectance(R) จากอัตราส่วนระหว่าง I_o กับ I_o จากนั้นเครื่องจะคำนวณค่าความเข้มข้นของสารที่ตรวจวัด (C) ออกมาโดยอาศัย Kubella - Munk formular ดังนี้

$$C = -(S/\varepsilon) + (S/2\ \varepsilon)R + (S/2\ \varepsilon)R-1$$

เมื่อ ε = Absorption coefficient

S = Scattering coefficient

C = Concentration

R = Reflectance

วิธีการใช้เครื่อง

1. เปิดเครื่อง (power on) รอจนเครื่อง READY

2. เลือก TEST STRIP (reagent carrier) ตามการตรวจวัด (test) ที่ต้องการ แล้วดึงแผ่นฟรอย ที่ปิดบนแผ่น TEST STRIP ออก

3. ใช้ micro-pipette ดูด sample 32 ไมโครลิตร แล้วปล่อยลงบน TEST STRIP ตรงแผ่นกรองแดง (plasma separating mat)

4. ทิ้งไว้ ประมาณ 10 วินาที (เพื่อให้พลาสมาถูกกรองและซึมผ่านไปอยู่ที่ plasma reservoir)

5. เปิดฝาส่วน Measuring Unit โดยเลื่อนฝาขึ้นด้านบน

6. ใส่ TEST STRIP เข้าไปในเครื่อง โดยสอดขึ้นไปตามร่องจนได้ยินเสียงดัง คลิก แล้วปิดฝา (สังเกตหน้าจอเครื่องจะบอก "PLEASE CLOSE FLAP"

7. เมื่อครบเวลาการตรวจวัดเสร็จสมบูรณ์ เครื่องจะรายงานผลทางหน้าจอ

8. เปิดฝา Measuring Unit แล้วดึงเอา TEST STRIP ออกแล้วตรวจวัด TEST อื่นต่อไปตามขั้นตอน ค่าชีวเคมีของโลหิตที่วิเคราะห์ได้แก่ Glucose, Cholesterol, BUN(Blood Urea Nitrogen),Calcium และ Phosphorus

1.7 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

วิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (V. 6.03) ทำการตรวจสอบและวัดความแตกต่างโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test และวิธี T test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่าต่าง ๆ ในภาคผนวก (SAS,1988)