บทที่ 3

วิธีวิจัย

3.1 ขอบเขต

การศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาหาความชุกและปัจจัยของการติดเชื้อฟรานซิสเซลลาในปลานิลแดงที่เลี้ยงในกระชังจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน ระหว่างเดือนสิงหาคม พ.ศ.2559 ถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ.2560 ใช้การสัมภาษณ์เกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลแดง เก็บตัวอย่างน้ำที่ใช้เลี้ยงปลานิลแดงในกระชังมาวิเคราะห์คุณภาพน้ำ เก็บตัวอย่างปลาป่วย แล้วทำการตรวจลักษณะทางกายภาพ ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา เพาะแยกเชื้อแบคทีเรีย และตรวจโดยวิธีอณูชีววิทยา

3.2 รูปแบบการศึกษา

การวิจัยเชิงวิเคราะห์โดยการสังเกต (Observational Analytic Study) แบบภาคตัดขวาง (Cross-Sectional Study) เพื่อศึกษาหาความชุกและปัจจัยที่มีต่อการติดเชื้อฟรานซิสเซลลาในปลานิลแดงที่เลี้ยงในกระชังจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน

3.3 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรคือ ฟาร์มปลานิลแดงที่เลี้ยงในกระชังจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน ซึ่งมีจำนวนฟาร์มทั้งหมด 142 ฟาร์มโดยจังหวัดเชียงใหม่มีทั้งหมด 102 ฟาร์ม (สำนักงานประมงจังหวัดเชียงใหม่เมื่อวันที่ 30 ตุลาคม พ.ศ.2558) และจังหวัดลำพูนมี 40 ฟาร์ม (สำนักงานประมงจังหวัดลำพูนเมื่อวันที่ 1 ตุลาคม พ.ศ.2558) โดยจำนวนฟาร์มของแต่ละอำเภอแสดงในตารางที่ 1

กลุ่มตัวอย่างคือ ฟาร์มปลานิลแดงที่เลี้ยงในกระชังจังหวัดเชียงใหม่และลำพูนที่ยังคงเลี้ยงปลานิลแดงในระหว่างที่เก็บข้อมูล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.4 จำนวนตัวอย่าง และการเลือกตัวอย่าง

จำนวนตัวอย่างได้จากการคำนวณขนาดตัวอย่างด้วยวิธีการประมาณจำนวนตัวอย่างจากค่าสัดส่วนแบบทราบจำนวนประชากรโดยใช้โปรแกรม R version 3.2.2 เนื่องจากยังไม่มีการศึกษาความชุกของการติดเชื้อฟรานซิสเซลล่า ในปลานิลแดงที่เลี้ยงในกระชังจังหวัดเชียงใหม่และลำพูนโดยใช้การคำนวณสัดส่วนแบบทราบจำนวนประชากรที่ค่าความชุกเท่ากับ 50% ค่าความผิดพลาดที่ยอมรับได้ 10% และช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ได้กลุ่มตัวอย่างจำนวน 60 ฟาร์ม

การเลือกตัวอย่างฟาร์ม ใช้การเลือกตัวอย่างสุ่มแบบแบ่งชั้น (Statified Random Sampling) ตามจังหวัด ได้จำนวนฟาร์มในจังหวัดเชียงใหม่ 55 ฟาร์ม และจังหวัดลำพูน 5 ฟาร์ม และคำนวณสัดส่วนจำนวนฟาร์มปลานิลแดงที่เลี้ยงในกระชังต่ออำเภอได้ตามตารางที่ 1 เลือกฟาร์มที่ได้ในแต่ละอำเภอด้วยวิธีสุ่มอย่างง่าย (Simple Random Sampling) โดยทำการเก็บตัวอย่างเดือนละ 5 ฟาร์มในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่และลำพูน

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนฟาร์มปลานิลแดงที่เลี้ยงในกระชังจังหวัดเชียงใหม่และลำพูนที่จะทำการเก็บตัวอย่าง

จังหวัด	อำเภอ	จำนวนฟาร์มทั้งหมด	จำนวนฟาร์มที่ถูกสุ่มเลือก
เชียงใหม่ (55 ฟาร์ม)	เมือง	2	0
	สารภี	12	9
	หางดง	33	16
	สันป่าตอง	2	0
	ดอยหล่อ	39	23
	จอมทอง	14	7
ลำพูน (5 ฟาร์ม)	ป่าซาง	26	5
รวม		**142**	**60**

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การเลือกตัวอย่างปลา โดยเลือกปลานิลแดงที่เลี้ยงในกระชัง จังหวัดเชียงใหม่และลำพูนที่แสดงอาการป่วย โดยแสดงอาการอย่างน้อย 1 อาการจากอาการดังต่อไปนี้คือ ลอยนิ่งบนผิวน้ำ ว่ายน้ำช้าลง ว่ายในท่าควงสว่าน พยายามอ้าปากงับอากาศ มีรอยโรคบริเวณผิวภายนอกร่างกาย ทำการเก็บปลานิลแดงป่วยกระชังละ 2 ตัว จากทุกกระชัง หากมีกระชังที่มีปลาป่วยมากกว่าครึ่งหนึ่งของจำนวนกระชังที่มีในฟาร์ม ทำการเก็บแค่ 50% ของจำนวนกระชังทั้งหมด

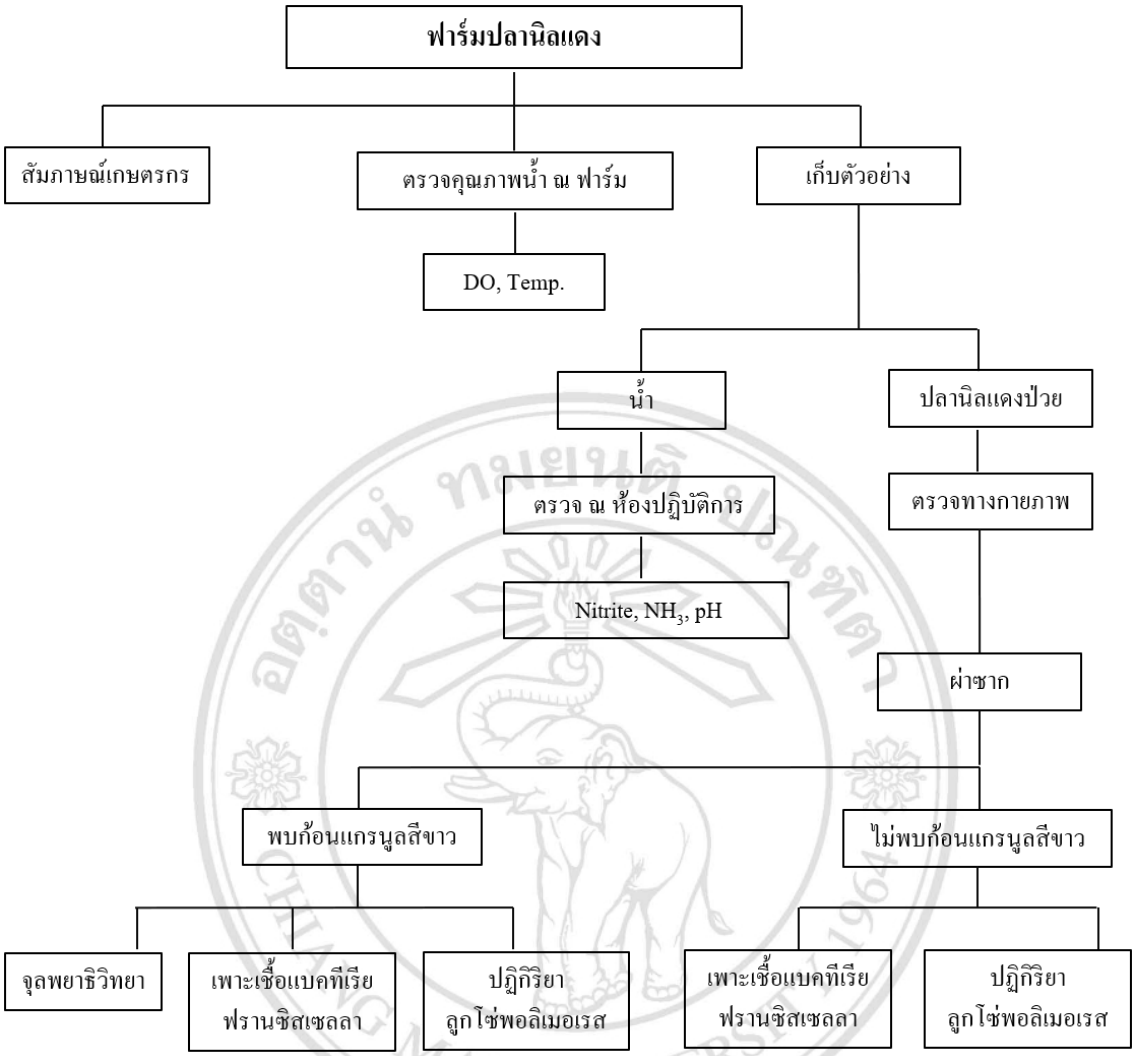
3.5 คำจำกัดความ

การติดเชื้อฟรานซิสเซลลา หมายถึง ผลการตรวจด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อฟรานซิสเซลลาที่ให้ผลเป็นบวก หากพบว่าในฟาร์มนั้นมีปลาที่ติดเชื้อฟรานซิสเซลลาจำนวน 1 ตัวหรือมากกว่าให้ถือว่าฟาร์มนั้นมีการติดเชื้อฟรานซิสเซลลา

3.6 วิธีการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้แบ่งการศึกษาออกเป็นได้ทำการสัมภาษณ์เกษตรกร ตรวจคุณภาพน้ำ ณ ฟาร์มและเก็บตัวอย่างน้ำ และปลานิลแดงป่วย เพื่อนำมาตรวจทางห้องปฏิบัติการ ดังภาพที่ 5

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 5 แสดงขั้นตอนการทำวิจัย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.6.1 การสัมภาษณ์เกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลแดง

เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา

แบบสัมภาษณ์โครงการวิจัย “ความชุกและปัจจัยที่มีผลต่อการติดเชื้อฟรานซิสเซลลาในปลานิลแดงที่เลี้ยงในกระชังจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน” คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยแบ่งหัวข้อที่ทำการสัมภาษณ์ออกเป็น 6 หัวข้อหลัก ได้แก่ ข้อมูลเบื้องต้นของฟาร์ม ข้อมูลสภาพอากาศ ฤดูกาล และสิ่งแวดล้อม ข้อมูลกระชัง ข้อมูลด้านการเลี้ยง การจัดการด้านอาหารและยา และการจัดการด้านสุขภาพปลา แบบสัมภาษณ์ที่สร้างเสร็จถูกนำไปทดสอบแบบสัมภาษณ์ โดยสัมภาษณ์ฟาร์มที่ไม่ถูกเลือกในการเก็บตัวอย่าง จำนวน 10 ฟาร์ม ในพื้นที่อำเภอดอยหล่อ อำเภอสารภี และอำเภอจอมทอง

วิธีการเก็บข้อมูล

ทำการสัมภาษณ์เกษตรกรขณะลงพื้นที่เก็บตัวอย่างน้ำและปลานิลแดงที่เลี้ยงในกระชัง โดยสัมภาษณ์ผู้ที่มีหน้าที่ดูแล เลี้ยงดู ให้อาหารปลานิลแดงที่เลี้ยงในกระชัง ทำการสัมภาษณ์ในช่วงเวลาที่เกษตรกรสะดวก โดยเก็บข้อมูลไม่เกินวันละ 5 ฟาร์ม เพื่อป้องกันการนำเชื้อโรคไปยังฟาร์มอื่น โดยข้อมูลดังกล่าวจะถูกเก็บไว้เป็นความลับ ไม่เผยแพร่ต่อสาธารณะ

3.6.2 การตรวจคุณภาพน้ำ ณ ฟาร์มปลานิลแดงที่เลี้ยงในกระชัง

โดยใช้เครื่องวัดออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved Oxygen Meter : YSI 550A, YSI, USA) โดยทำการวัดขณะที่ทำการเก็บตัวอย่างน้ำและปลานิลแดงป่วย ณ ฟาร์มปลานิลแดงที่เลี้ยงในกระชัง ทำการวัดในช่วงเวลาเดียวกันในทุกฟาร์ม คือช่วง 06.00-08.00 น.

3.6.3 การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

3.6.3.1 การเก็บตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างน้ำ

การเก็บตัวอย่างน้ำโดยเก็บใส่ขวดเก็บตัวอย่างน้ำขนาด 1 ลิตร จำนวน 2 ขวด เก็บลึกประมาณ 1 ฟุต โดยทำการเก็บ 4 จุดคือบริเวณหน้าฟาร์ม (นอกกระชัง) กลางฟาร์ม (ในและนอกกระชัง) และท้ายกระชัง (นอกกระชัง) ดังภาพที่ 6 จากนั้นนำตัวอย่างน้ำมาเก็บภายในกล่องโฟมไม่ให้โดนแสงแดด และควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาตรวจที่ห้องปฏิบัติการสัตว์น้ำ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ การเก็บตัวอย่างน้ำนี้ทำการเก็บในช่วงเวลาเดียวกันในทุกฟาร์ม คือช่วง 06.00-08.00 น.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

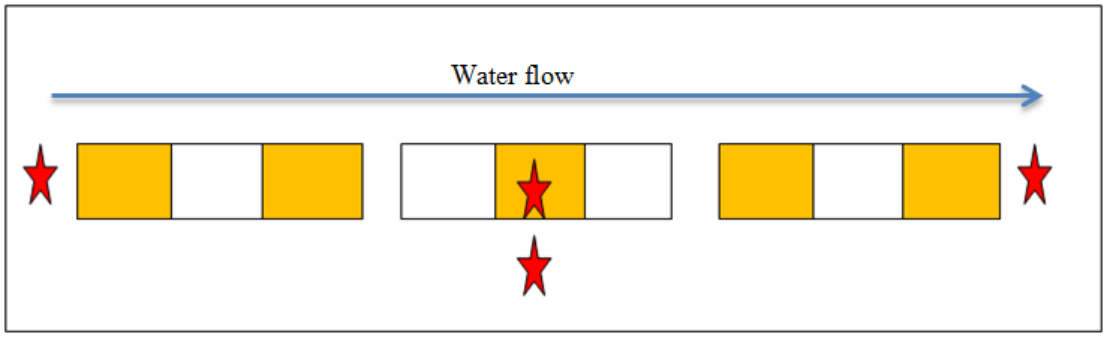
การเก็บตัวอย่างปลานิลแดง

จดบันทึกข้อมูลอายุของปลา น้ำหนัก ความยาวและตำแหน่งกระชังที่ทำการเก็บตัวอย่าง ปลานิลแดงที่ป่วยและเป็นตัวอย่างในการศึกษา ทำการการุณยฆาตด้วยยาสลบ clove oil ในขนาดมากกว่าปกติ (Overdose) (Neiffer and Stamper, 2009) เก็บรักษาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นทำตัวอย่างส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมง โดยการเก็บตัวอย่างปลาป่วยจะเก็บในตำแหน่งหัวกระชัง กลางกระชัง ท้ายกระชัง และกระชังอื่นตามความเหมาะสมดังภาพที่ 6

3.6.3.2 วิธีการตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

3.6.3.2.1 การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

ตัวอย่างน้ำถูกนำมาวิเคราะห์โดยวิธีไตเตรทที่ห้องปฏิบัติการสัตว์น้ำ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียรวมในน้ำ และปริมาณไนไตรท์ตามคู่มือการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (วิรัช, 2544) ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ทำการวัดด้วยเครื่อง pH meter (CyberScan 500 pH, Germany) (ภาคผนวก) นำค่าที่ได้บันทึกผล



ภาพที่ 6 แสดงการสุ่มเก็บตัวอย่างปลาและน้ำ

คือตำแหน่งที่ทำการเก็บตัวอย่างปลานิลแดง

คือตำแหน่งที่ทำการเก็บตัวอย่างน้ำ

3.6.3.2.2 การตรวจปลานิลแดง

<u>-การตรวจทางกายภาพปลานิลแดง</u>

ชั่งน้ำหนัก วัดความยาวของตัวปลา และสังเกตลักษณะความผิดปกติภายนอกร่างกาย จากนั้นทำการเปิดผ่าซากดูลักษณะความผิดปกติของอวัยวะภายในพร้อมจดบันทึกผล เมื่อพบลักษณะก้อนแกรนูโลม่าสีขาวที่ตับ ม้าม และไตในอวัยวะใดอวัยวะหนึ่ง ตัวอย่างจะถูกแบ่งเป็นสามส่วนคือ สำหรับการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา เพาะเชื้อแบคทีเรียและอณูชีววิทยา หากไม่พบลักษณะก้อนแกรนูโลม่าสีขาวตัวอย่างถูกแบ่งเป็นสองส่วนสำหรับเพาะเชื้อแบคทีเรียและอณูชีววิทยา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

-การตรวจชิ้นเนื้อด้วยวิธีจุลพยาธิวิทยา

นำตัวอย่างตับ ม้าม หรือไตที่มีวิการลักษณะของก้อนแกรนูโลม่าสีขาว (Granuloma) มาแช่ใน 10% Neutral Buffered Formalin แล้วนำใส่เครื่อง Tissue Processing ซึ่งเครื่องนี้มีหลักการที่ประกอบด้วย การทำให้ตัวกลางที่เป็นน้ำยาเคมีต่างๆ ที่มีชิ้นเนื้อแช่อยู่ซึมแทรกเข้าไปในส่วนประกอบต่างๆ ของชิ้นเนื้อเยื่อ จากนั้นเข้าสู่ขั้นตอนการทำบล็อกชิ้นเนื้อเพื่อช่วยให้การตัดเป็น Paraffin Section ทำได้ง่ายสะดวกและเพื่อให้ได้ Paraffin Section เป็นแถวยาว (Ribbon) และมีความบาง (Thin Section) ตามที่ต้องการ เมื่อทำการบล็อกชิ้นเนื้อเสร็จเรียบร้อยแล้วนำไปเข้าสู่ขบวนการตัดชิ้นเนื้อด้วยเครื่อง Microtome ต่อไปโดยตัดชิ้นเนื้อให้มีขนาด 3-5 μm จากนั้นนำไปย้อมสีชิ้นเนื้อด้วยสี Haematoxylin and Eosin (H&E) และ Acid Fast และส่องดูลักษณะชิ้นเนื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Nguyen et al., 2015)

วิธีการอ่านผล

เมื่อย้อมชิ้นเนื้อด้วยสี H&E แล้วพบการอักเสบแบบก้อนเนื้อแกรนูโลมา (Granulomatous Inflammation) บริเวณรอยโรค และ/หรือพบเซลล์อักเสบชนิดโมโนนิวเคลียร์ และเมื่อย้อมชิ้นเนื้อด้วยสีย้อมชนิด Acid Fast ให้ผลเป็นลบให้คาดว่าติดเชื้อฟรานซิสเซลลา

-การเพาะเชื้อแบคทีเรียฟรานซิสเซลลา

ตับ ม้าม และไตของปลานิลแดงทุกตัวที่ทำการเก็บตัวอย่างมาเพาะเชื้อแบคทีเรีย โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิดสำหรับการเพาะแยกเชื้อแบคทีเรีย โดยการเพาะแยกเชื้อฟรานซิสเซลลาใช้อาหาร Cysteine Heart Agar (CHA, Diffco) ผสมเลือดแกะความเข้มข้น 10% และยา Polymixin B ขนาด 100 unit/ml (CHAB) (Soto et al., 2009) โดยนำตับ ม้าม และไตส่วนหน้าของปลานิลแดงบดให้ละเอียดในสารละลาย Phosphate buffered saline (PBS) ปริมาตร 500 μl จากนั้นจึงนำตัวอย่างที่ได้มากระจาย (Spread) บนผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ CHAB บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

-การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียฟรานซิสเซลลา

เมื่อได้เชื้อแบคทีเรียที่บริสุทธิ์แล้วนำมาทำการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ซึ่งประกอบด้วยการย้อมสีแกรมเพื่อดูลักษณะรูปร่างของแบคทีเรีย ทดสอบการเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย (Motility Test) การทดสอบคะตาเลส (Catalase Test) และการทดสอบออกซิเดส (Oxidase Test) (Birkbeck et al, 2007)

วิธีการอ่านผล

เชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีนูน สีเหลืองซีด และเมื่อทดสอบทางชีวเคมีพบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างกลม ไม่เคลื่อนที่ให้ผลบวกในการทดสอบคะตาเลส (Catalase Test) ผลลบในการทดสอบเอนไซม์ออกซิเดส (Oxidase Test) และไม่สามารถโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Blood Agar ร่วมกับเลือดแกะความเข้มข้น 5% ให้คาดว่าจะเป็นเชื้อฟรานซิสเซลลา

-การตรวจด้วยวิธีอณูชีววิทยา

สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างอวัยวะตับ ม้าม และไตของปลานิลแดงทุกตัวที่เก็บตัวอย่างด้วยชุดสำเร็จรูป (NucleoSpin Tissue) (Macherey-Nagel®, USA) ดำเนินการตามขั้นตอนและวิธีการของชุดสำเร็จรูป

ตรวจคุณภาพของดีเอ็นเอที่สกัดได้โดยวิธี Spectrophotometry โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer (GENESYS 10 VS, Thermo Spectronic, USA) นำดีเอ็นเอที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density) ที่ 260 นาโนเมตร (OD260) และที่ 280 นาโนเมตร (OD280) ดีเอ็นเอที่มีสัดส่วนการดูดกลืนแสงของ 260/280 นาโนเมตรประมาณ 1.7 – 1.9 จึงนำไปเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอต่อไป

ทำการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส โดยใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบมาจาก 16s rRNA ที่จำเพาะต่อเชื้อฟรานซิสเซลลา (F11, 5’-TACCAGTTGGAAACGACTGT-3’ และ F5, 5’-CCTTTTTGAGTTTCGCTCC-3’) (Forsman et al., 1994) สารละลายของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส ปริมาตรรวมเท่ากับ 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 1x Quick Taq HS DyeMix 12.5 µl, primer F11 0.5 µl, primer F5 0.5 µl, Template DNA 2 µl และ distilled water 9.5 µl นำมาทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสด้วยเครื่องเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรม (Thermocycler : T100TMTherml Cycler, BIORAD) โดยใช้อุณหภูมิเริ่มต้นที่ 94 °C นาน 3 นาที 1 รอบ, อุณหภูมิ 94 °C นาน 30 วินาที 35 รอบ ตามด้วยอุณหภูมิ 60 °C นาน 1 นาที 35 รอบ ตามด้วยอุณหภูมิ 72 °C นาน 1 นาที 35 รอบ สุดท้าย Final Extension 72 °C นาน 5 นาที 1 รอบ จะได้ PCR Product

ตัวอย่าง PCR Product ที่ได้ถูกเทียบกับ positive PCR Product ซึ่งได้รับการยืนยันลำดับพันธุกรรมว่าเป็นเชื้อฟรานซิสเซลลา (Nguyen et al., 2015) โดยได้ความอนุเคราะห์จาก ผศ.น.สพ.ดร.ชาญณรงค์ รอดคำ อาจารย์ประจำวิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากนั้นนำผลของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสมาทำการตรวจสอบขนาดโดยเทคนิค Agarose Gel Electrophoresis (Electrophoresis : PowerPac200, BIORAD) โดยใช้ 1.5% Agarose Gel ทำการอ่านผลจากแถบการเคลื่อนที่ของดีเอ็นเอด้วยแสงยูวี โดยนำแผ่นเจลออกจากเครื่อง electrophoresis โดยจะต้องใช้อุปกรณ์ยกไม่ให้เกิดรอยพับของแผ่นเจล นำเข้าเครื่อง UV Transilumination (GelMax® 125 Image, GIBTHAI) สังเกตการดูดกลืนแสงของแถบ DNA และบันทึกผล

ทำการยืนยันผลโดยการนำตัวอย่างดีเอ็นเอที่ได้ผลบวกจากปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (PCR) ไปหาลำดับเบส (DNA Sequencing) โดยเปรียบเทียบลำดับดีเอ็นเอเพื่อหาความเหมือน (Identity) ระหว่างตัวอย่างดีเอ็นเอที่ได้กับเชื้อแบคทีเรียฟรานซิสเซลลาในฐานข้อมูลด้วยโปรแกรม BLASTX ver. 2.2.30 (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/)

3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้สถิติแบบพรรณนาด้วยค่าเฉลี่ย (Mean) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation) ค่ามากสุด (Max) และค่าน้อยสุด (Min) สำหรับข้อมูลแบบต่อเนื่อง เช่น น้ำหนัก ความยาว อายุ และระยะเวลาการเพาะเลี้ยงปลา และอธิบายค่าสัดส่วนและร้อยละสำหรับตัวแปรแบบแบ่งกลุ่มเช่น แหล่งที่มาของลูกปลา

ความชุกของการติดเชื้อฟรานซิสเซลลา คำนวณจากสัดส่วนของจำนวนฟาร์มปลานิลแดงที่ติดเชื้อฟรานซิสเซลลาที่ให้ผลบวกด้วยการปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสเทียบกับจำนวนฟาร์มปลานิลแดงที่เก็บตัวอย่างทั้งหมด

การวิเคราะห์ปัจจัยของการติดเชื้อฟรานซิสเซลลาในปลานิลแดงทีละปัจจัยโดยใช้สถิติ Chi Square หรือ Fisher Exact และใช้เทคนิคการวิเคราะห์ความถดถอยเชิงพหุ (Logistic Regression) สำหรับปัจจัยของการติดเชื้อฟรานซิสเซลลาในปลานิลแดงหลายปัจจัยร่วมกัน โดยกำหนดค่านัยสำคัญทางสถิติที่ p-value ≤ 0.05 การวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดใช้โปรแกรม R version 3.2.2 (De and Van, 2013)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved