ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของ IgG ด้วยวิธี Laemmli SDS-PAGE

1. สารเคมี

1.1 Acrylamide/bis (30%T, 2.67%C)

Acrylamide (FW 71.08)	29.2	กรัม
N'N'-bis-methylene-acrylamide (FW 154.17)	0.8	กรัม

ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในที่มืด

1.2 4x Running gel buffer (1.5M Tris-HCl pH 8.8)

Tris base (FW 121.1)	27.23	กรัม
น้ำกลั่น	80	มิลลิลิตร

ปรับ pH 8.8 ด้วย 6N HCl ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 150 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในที่มืด

1.3 4x Stacking gel buffer (0.5M Tris-HCl pH 6.8)

Tris base	6	กรัม
น้ำกลั่น	60	มิลลิลิตร

ปรับ pH 6.8 ด้วย 6N HCl ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในที่มืด

1.4 10% SDS

SDS	10	กรัม

ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิห้อง

1.5 10% Ammonium persulfate

Ammonium persulfate (MW 228.20)	0.1	กรัม

ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1 มิลลิลิตร เตรียมก่อนใช้งาน

1.6 Sample buffer (Reducing buffer)

4x Stacking gel buffer	1.25	มิลลิลิตร
Glycerol	2.5	มิลลิลิตร
10%(w/v) SDS	2	มิลลิลิตร
0.5% Bromophenol blue	0.2	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	3.55	มิลลิลิตร

ใส่ β-Mercaptoetanol ปริมาตร 50 ไมโครลิตรใน Sample Buffer ปริมาตร 950 ไมโครลิตร ก่อนนำไปใช้

1.7 Running buffer (pH 8.3)

Tris base (FW 121.1)	3.03	กรัม
Glycine	14.40	กรัม
SDS	10	กรัม

ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร เก็บที่อุณหภูมิห้อง

1.8 Staining solution

Coomassie brilliant blue R	0.25	กรัม
Methanol	400	มิลลิลิตร
Acetic acid	70	มิลลิลิตร

ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร เก็บที่อุณหภูมิห้อง

1.9 Destaining solution I

Methanol	400	มิลลิลิตร
Acetic acid	70	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร เก็บที่อุณหภูมิห้อง

1.10 Destaining solution II

Methanol	50	มิลลิลิตร
Acetic acid	70	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร เก็บที่อุณหภูมิห้อง

2. วิธีทำ

2.1 ประกอบอุปกรณ์ Mini-PROTEAN® 3 cell ของ BIO-RAD ที่จะใช้เตรียม gel ให้พร้อม

2.2 เตรียม running gel ความเข้มข้น 15 % ปริมาตร 5 มิลลิลิตร โดยต้องผสมสารในบีก-เกอร์ให้เข้ากันอย่างเบา ๆ ก่อนจะใส่สารตัวต่อไป ตามลำดับดังนี้ ใส่ acrylamide/Bis 2.5 มิลลิลิตร, 4x running gel buffer 1.25 มิลลิลิตร, น้ำกลั่น 1.17 มิลลิลิตร, 10% SDS 50 ไมโครลิตร, 10% ammonium persulfate 25 ไมโครลิตร และ tetramethylethylenediamine (TEMED) 1.7 ไมโครลิตร แล้วรีบเทใส่ glass plate ที่เตรียมไว้ หลังจากนั้นปรับผิวหน้า running gel โดยใส่น้ำกลั่นลงไป ตั้งทิ้งไว้จน gel แข็งตัว

2.3 เตรียม stacking gel ความเข้มข้น 3% ปริมาตร 5 มิลลิลิตร โดยต้องผสมสารในบีก-เกอร์ให้เข้ากันอย่างเบา ๆ ก่อนจะใส่สารตัวต่อไป ตามลำดับดังนี้ ใส่ acrylamide/bis 0.498 มิลลิลิตร, 4x stacking gel buffer 1.25 มิลลิลิตร, น้ำกลั่น 3.17 มิลลิลิตร, 10% SDS 50 ไมโครลิตร, 10% ammonium persulfate 25 ไมโครลิตร และ tetramethylethylenediamine (TEMED) 2.5 ไมโครลิตร แล้วรีบปิเปตใส่ running gel ที่เทน้ำออกแล้ว นำ comb ของชุด gel ใส่ลงไป ตั้งทิ้งไว้จน gel แข็งตัวอย่างน้อย 60 นาที แล้วดึง comb ออก และย้าย gel มาใส่ใน tank buffer เท running buffer ลงไปให้ท่วม gel

2.4 นำตัวอย่างปริมาตร 4 ไมโครลิตรผสมกับ sample buffer ปริมาตร 4 ไมโครลิตร นำไปต้มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที แล้วนำมาใส่ในหลุม gel และใส่โปรตีนมาตรฐาน # SM0431 ของ MBI Fermentas ปริมาตร 5 ไมโครลิตรอีก 1 หลุม เปิดเครื่องโดยใช้ไฟ 100 โวลท์ หลังจากนั้นนำ gel ไปย้อมสี coomassie brilliant blue R ล้างสีย้อมด้วย destaining solution I และ destaining solution II ตามลำดับ

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

1. สารเคมี

1.1 สารละลาย 2% (w/v) sodium carbonate (Na_2CO_3) ใน 0.1 N NaOH

1.2 สารละลาย 2% (w/v) sodium potassium tartrate

1.3 สารละลาย 1% (w/v) copper sulphate ($CuSO_4.5H_2O$)

1.4 สารละลาย alkali copper

นำสารละลายข้อ 1.1 ปริมาตร 98 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายข้อ 1.2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสารละลายข้อ 1.3 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (ควรเตรียมสารละลายนี้ก่อนนำไปใช้)

1.5 1 N folin-ciocalteau phenol reagent นำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นอัตราส่วน 1:1 ก่อนนำไปใช้

1.6 สารละลายมาตรฐานโปรตีน ใช้ bovine serum albumin ปริมาณ 0.005 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้มาเจือจางให้มีความเข้มข้น 50 ถึง 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2. วิธีทำ

2.1 ทำกราฟมาตรฐานโดยใช้สารละลายมาตรฐานโปรตีน bovine serum albumin ความเข้มข้น 50, 100, 200, 300, 400 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2.2 ใส่ตัวอย่าง 20 ไมโครลิตรในหลอดทดสอบ

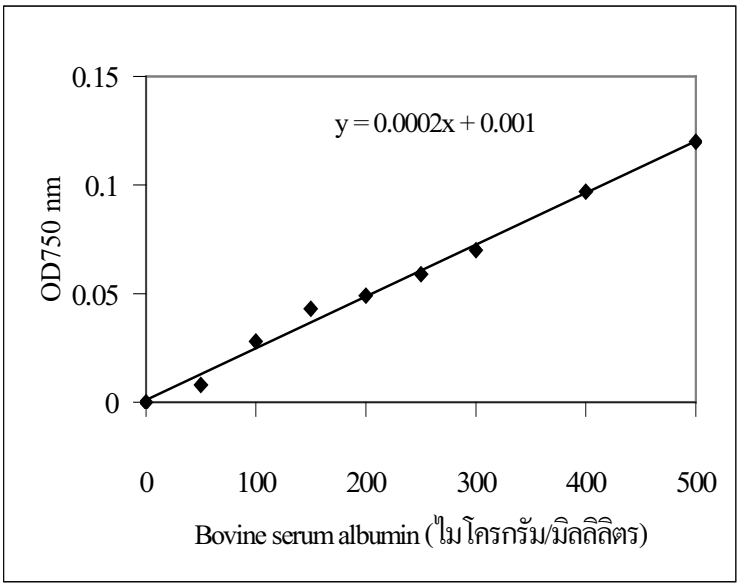
2.3 เติมสารละลาย alkali copper ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที

2.4 เติม 1 N folin-ciocalteau phenol reagent ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร เขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าดูดกลืนแสงกับปริมาณโปรตีน

2.5 การหาปริมาณโปรตีนใน IgG ปฏิบัติตามข้อ 2.2 ถึง 2.4 แล้วนำไปเปรียบเทียบกับกราฟโปรตีนมาตรฐาน

3. การคำนวณ

ชั่ง IgG ปริมาณ 0.001 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร และนำมาเจือจาง 2 เท่า วัดค่าการดูดกลืนแสงได้ 0.045 นำมาคำนวณสมการ y = 0.0002x+0.001 ที่ได้จากกราฟมาตรฐาน ดังนั้นปริมาณโปรตีนที่เจือจาง 2 เท่า คือ 225 x 2 เท่ากับ 450 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



<u>ภาพผนวกที่ ข1</u> กราฟโปรตีนมาตรฐานของ Bovine serum albumin

ภาคผนวก ค

การตรวจยืนยันเชื้อ *Salmonella* ทางชีวเคมี

1. นำโคโลนีเชื้อที่คิดว่าเป็น *Salmonella* ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSI และ MIL แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 35± 1 องศาเซลเซียส นาน 24±2 ชั่วโมง

2. ตรวจผลการทดสอบโดยอ่านผลปฏิกิริยาบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนี้

TSI ดูการใช้น้ำตาล การสร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ และ ก๊าซ

MIL หรือ LIM ดูการสร้างเอนไซม์ lysine decarboxylase, การสร้างอินโดล และการเคลื่อนที่

ตารางผนวกที่ ค1 ปฏิกิริยาของเชื้อ *Salmonella* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSI และ MIL

เชื้อ	TSI				L	I	M
	Slant	butt	gas	H_2S	lysine	indole	motile
S. Typhi	K	A	-	+	+	-	+
S. Paratyphi A	K	A	+	-	-	-	+
S. Choleraesuis	K	A	+	d	+	-	+
S. Pullorum	K	A	+	-	+	-	-
S. Gallinarum	K	A	-	-	+	-	-
Other *Salmonella*	K	A	+	+(-)	+	-	+(-)

ภาคผนวก ง1

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

Xylose lysine desoxycholate agar

ส่วนประกอบ (กรัม/ลิตร)		
Yeast extract	3.0	กรัม
L-Lysine HCl	5.0	กรัม
Xylose	3.75	กรัม
Lactose	7.5	กรัม
Sucrose	7.5	กรัม
Sodium desoxycholate	1.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Sodium thiosulphate	6.8	กรัม
Ferric ammonium citrate	0.8	กรัม
Phenol red	0.08	กรัม
Agar	12.5	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ต้มจนเดือด แล้วเทใส่จานเพาะเชื้อ

Modified semisolid rappaport vassiliadis medium

ส่วนประกอบ (กรัม/ลิตร)		
Tryptose	4.59	กรัม
Casein hydrolysate (Acid)	4.59	กรัม
Sodium chloride	7.34	กรัม
Potassium dihydrogen phosphate	1.47	กรัม
Magnesium chloride (Anhydrous)	10.93	กรัม
Malachite green oxalate	0.037	กรัม

Agar	2.7	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ต้มจนเดือด ทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงถึง 50 องศาเซลเซียส แล้วใส่ MSRV supplement ลงไปจำนวน 1 ขวดต่อ MSRV 500 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วเทใส่จานเพาะเชื้อ

MSRV supplement

Novobiocin	10	มิลลิกรัม

ใส่น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 2 มิลลิลิตรลงในขวด

Eosin methlene blue lactose sucrose agar

ส่วนประกอบ (กรัม/ลิตร)

Peptone	10.0	กรัม
di-Potassium hydrogen phosphate	2.0	กรัม
Lactose	5.0	กรัม
Sucrose	5.0	กรัม
Eosin yellowish	0.4	กรัม
Methylene blue	0.07	กรัม
Agar	13.5	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วเทใส่จานเพาะเชื้อ

MacConkey agar

ส่วนประกอบ (กรัม/ลิตร)

Peptone	20.0	กรัม
Lactose	10.0	กรัม
Bile salt no.3	1.5	กรัม

Sodium chloride	5.0	กรัม
Neutral red	0.05	กรัม
Crystal violet	0.001	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วเทใส่จานเพาะเชื้อ

Tryptone soya agar

ส่วนประกอบ (กรัม/ลิตร)

Tryptone	15.0	กรัม
Soya peptone	5.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ทำการต้มจนเดือด แล้วปิเปตใส่หลอดทดลองขนาด 16x150 มิลลิเมตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที หลังจากนั้นนำมาวางเอียงจนอาหารแข็งตัว

Buffered peptone water

ส่วนประกอบ (กรัม/ลิตร)

Peptone	10.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Disodium phosphate	9.0	กรัม
Potassium phosphate	1.5	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

Rappaport and Vassiliadis broth

ส่วนประกอบ (กรัม/ลิตร)		
Peptone from soymeal	4.5	กรัม
Magnesium chloride-hexahydrate	28.6	กรัม
Sodium chloride	7.2	กรัม
di-Potassium hydrogen phosphate	0.18	กรัม
Potassium dihydrogen phosphate	1.26	กรัม
Malachite green oxalate	0.036	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

Muller-Kauffman tetrathionate broth

ส่วนประกอบ (กรัม/ลิตร)		
Tryptone	7.0	กรัม
Soya peptone	2.3	กรัม
Sodium chloride	2.3	กรัม
Calcium carbonate	25.0	กรัม
Sodium thiosulphate	40.7	กรัม
Ox bile	4.75	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ต้มจนเดือด รอจนอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียสแล้วจึงใส่ iodine solution และ brilliant green solution ก่อนการใช้งาน สำหรับ MKTT broth ที่ยังไม่ได้เติมสารละลายดังกล่าว สามารถเก็บไว้ได้ในตู้เย็น

Iodine solution

Iodine	20	กรัม
Potassium iodide	25	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

MKTT broth 1 ลิตร ใส่ Iodine Solution 19 มิลลิลิตร

Brilliant green solution

Brilliant Green	0.1	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

MKTT broth 1 ลิตร ใส่ Brilliant Green Solution 9.5 มิลลิลิตร

Standard plate count agar (PCA)

ส่วนประกอบ (กรัม/ลิตร)		
Yeast extract	2.5	กรัม
Pancreatic digest of casein	5.0	กรัม
Glucose	1.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

Mannitol salt egg yolk agar (MSEY)

ส่วนประกอบ (กรัม/ลิตร)		
‘Lab-Lemco’ powder	1.0	กรัม
Peptone	10.0	กรัม
Mannitol	10.0	กรัม
Sodium chloride	75.0	กรัม

Phenol red	0.025	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที รอจนอุณหภูมิประมาณ 45 ถึง 50 องศาเซลเซียสแล้วจึงใส่ไข่แดง 3% ผสมให้เข้ากันแล้วเทใส่จานเพาะเชื้อ

Triple sugar iron agar (TSI)

ส่วนประกอบ (กรัม/ลิตร)		
'Lab-Lemco' powder	3.0	กรัม
Yeast extract	3.0	กรัม
Peptone	20.0	กรัม
Sodium chloridr	5.0	กรัม
Lactose	10.0	กรัม
Sucrose	10.0	กรัม
Glucose	1.0	กรัม
Ferric citrate	0.3	กรัม
Sodium thiosulphate	0.3	กรัม
Phenol red	q.s.	
Agar	12.0	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ต้มจนเดือด แล้วแบ่งใส่หลอดทดลองขนาด 13x100 มิลลิเมตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วนำมาวางเอียงจนอาหารแข็งตัว

MIL medium

ส่วนประกอบ (กรัม/ลิตร)		
Bacto peptone	10.0	กรัม
Bacto tryptone	10.0	กรัม

Bacto Yeast Extract	3.0	กรัม
L-Lysine Hydrochloride	10.0	กรัม
Bacto dextrose	1.0	กรัม
Ferric ammonium citrate	0.5	กรัม
Bacto brom cresol purple	0.02	กรัม
Bacto agar	2.0	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ต้มจนเดือด แล้วแบ่งใส่หลอดทดลองขนาด 13x100 มิลลิเมตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัวในลักษณะ deep tube

ภาคผนวก ง2

สูตรสารละลายบัฟเฟอร์

0.85% สารละลายน้ำเกลือ

NaCl	8.5	กรัม

ชั่งสารนำมาละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรด้วยให้เป็น 1 ลิตร

0.15 M Phosphate buffered saline (PBS) pH 7.2

NaCl (MW 58.4)	8.0	กรัม
KCl	0.2	กรัม
Na_2HPO_4 (MW 142.1)	1.15	กรัม
KH_2PO_4 (MW 136.09)	0.2	กรัม

ชั่งสารนำมาละลายในน้ำกลั่นปรับ pH เป็น 7.2 แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร

20 mM Sodium phosphate pH 7.0

Na_2HPO_4 (MW 142.1)	1.73	กรัม
$NaH_2PO_4.2H_2O$ (MW 156.01)	1.22	กรัม

ชั่งสารนำมาละลายในน้ำกลั่นปรับ pH เป็น 7.0 แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร

0.1 M Citric acid pH 3.0

Citric acid (MW 210.14)	21.014	กรัม

ชั่งสารนำมาละลายในน้ำกลั่นปรับ pH เป็น 3.0 แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร

1.0 M Tris-hydrochloric acid pH 9.0

Tris ($C_4H_{11}NO_3$, MW 121.14)	12.114	กรัม

ชั่งสารนำมาละลายในน้ำกลั่นปรับ pH เป็น 9.0 แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร

0.1 M Sodium phosphate buffered pH 7.4

$NaH_2PO_4.H_2O$ (MW 137.99)	2.62	กรัม
$Na_2HPO_4.2H_2O$ (MW 177.99)	14.42	กรัม

ชั่งสารนำมาละลายในน้ำกลั่นปรับ pH เป็น 7.4 แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร

Phosphate buffered saline (PBS) pH 7.4 with 0.1% (w/v) BSA

NaCl	0.88	กรัม
Bovine serum albumin	0.1	กรัม

ชั่งสารนำมาละลายใน 0.01 M Sodium phosphate pH 7.4 แล้วปรับปริมาตรด้วย 0.01 M Sodium phosphate pH 7.4 ให้เป็น 100 มิลลิลิตร

0.01 M Sodium phosphate buffer pH 7.4 with 0.05% Tween 20 (PBS-tween 20)

$NaH_2PO_4.H_2O$	0.262	กรัม
$Na_2HPO_4.2H_2O$	1.442	กรัม
NaCl	8.8	กรัม
Tween 20	0.5	มิลลิลิตร

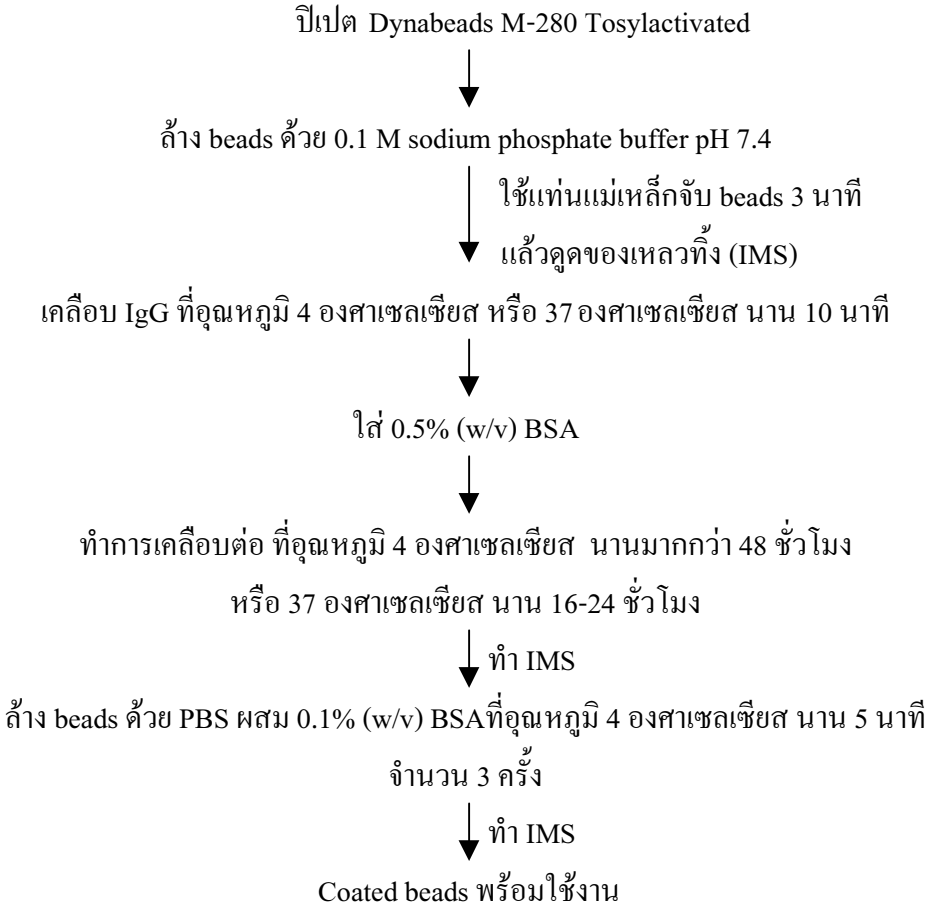
ชั่งสารนำมาละลายในน้ำกลั่นปรับ pH เป็น 7.4 แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร

Phosphate buffered saline (PBS) pH 7.4

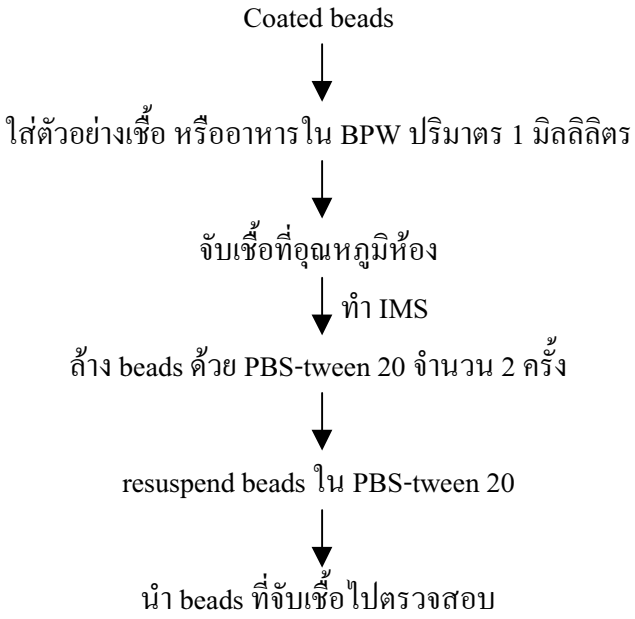
$NaH_2PO_4.H_2O$ (MW 137.99)	0.16	กรัม
$Na_2HPO_4.2H_2O$(MW 177.99)	0.98	กรัม
NaCl (MW 58.44)	8.10	กรัม

ละลายในน้ำกลั่นปรับ pH เป็น 7.4 แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร

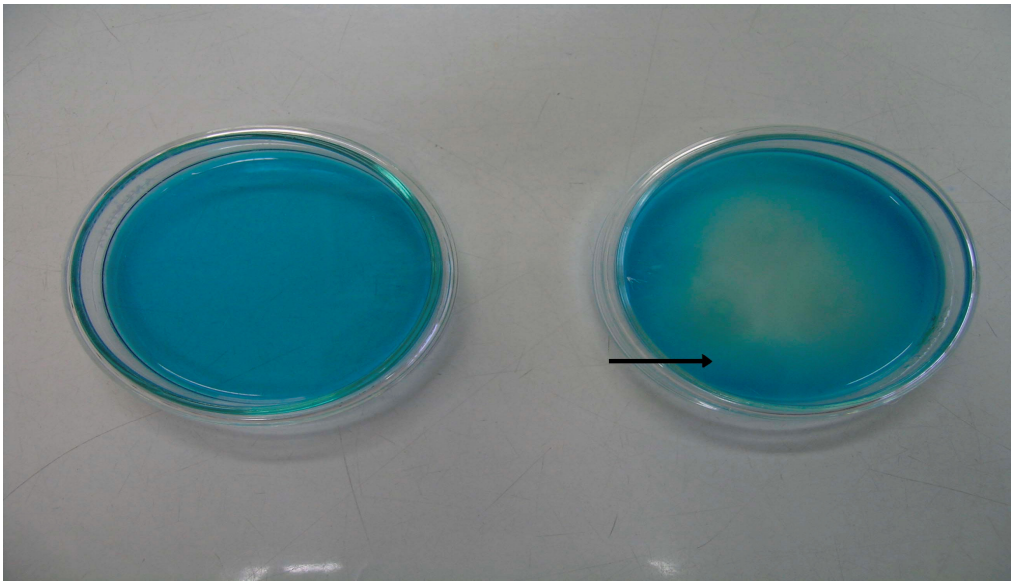
ภาคผนวก จ



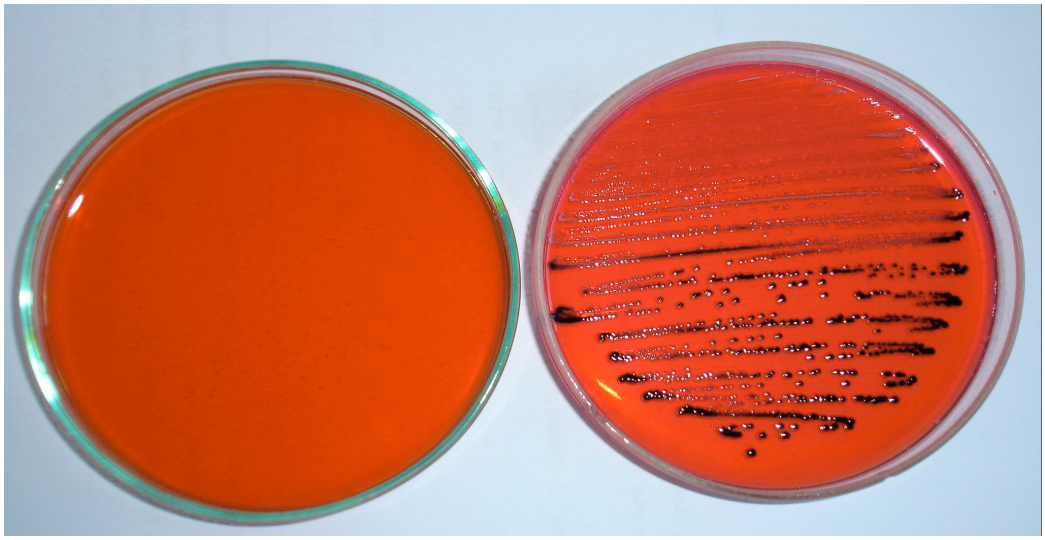
<u>ภาพผนวกที่ จ1</u> ขั้นตอนการเคลือบ IgG บน Dynabeads M-280 Tosylactivated



ภาพผนวกที่ จ2 ขั้นตอนการใช้เทคนิค Immunomagnetic separation

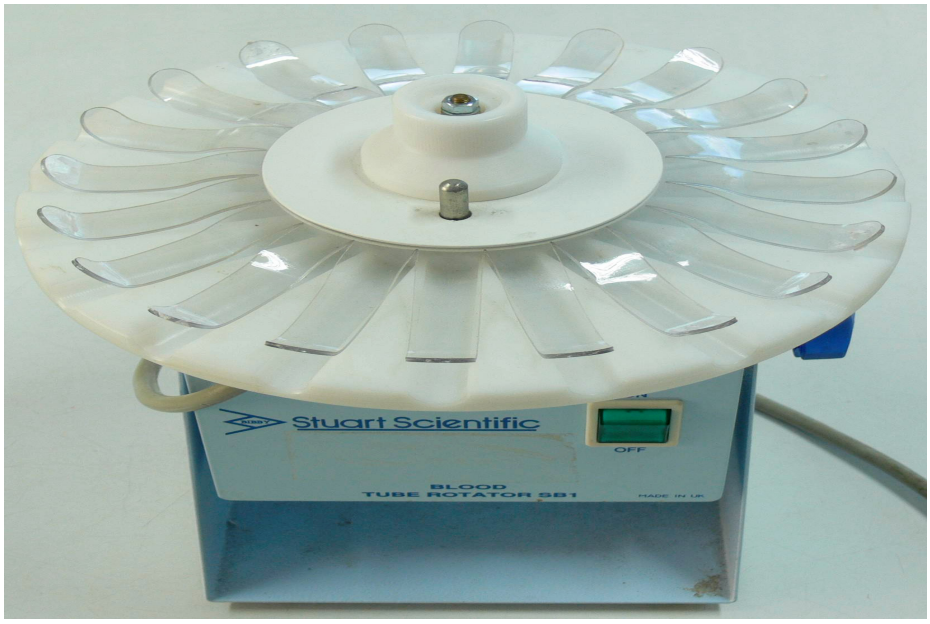


ภาพผนวกที่ จ3 ลักษณะการเจริญของเชื้อ *Salmonella* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MSRV

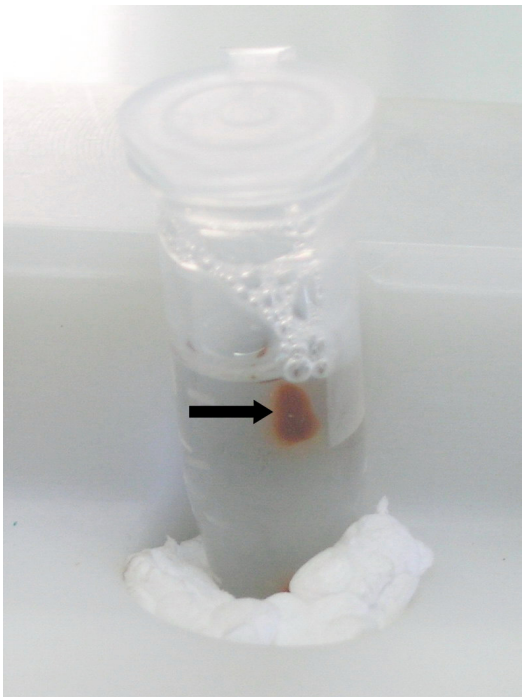


ภาพผนวกที่ จ4 ลักษณะการเจริญของเชื้อ *Salmonella* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD

ภาพผนวกที่ จ5 อุปกรณ์แท่นแม่เหล็ก (Dynal MPC) ที่ใช้ทำ IMS



<u>ภาพผนวกที่ จ6</u> อุปกรณ์เครื่องหมุนระหว่างการเคลือบ IgG บน beads และการจับเชื้อ



ภาพผนวกที่ จ7 การเกาะติดของ beads ในการทำ IMS

ภาคผนวก ฉ

ตารางผนวกที่ ฉ1 เปรียบเทียบผลการตรวจเชื้อ *Salmonella* ในอาหาร โดยวิธี IMS ที่ใช้ Dynabeads® anti-Salmonella กับวิธี ISO6579:2002

		ISO6579:2002		
		พบ	ไม่พบ	รวม
IMS	พบ	25	0	25
	ไม่พบ	1	4	5
	รวม	26	4	30

ตารางผนวกที่ ฉ2 เปรียบเทียบผลการตรวจเชื้อ *Salmonella* ในอาหาร โดยวิธี IMS ที่ใช้ Dynabeads M-280 Tosylactivated เคลือบด้วย IgG ที่ผลิตเอง กับวิธี ISO6579:2002

		ISO6579:2002		
		พบ	ไม่พบ	รวม
IMS	พบ	26	0	25
	ไม่พบ	1	4	5
	รวม	26	4	30