



คำขอบริการที่ 63/M051/2

ที่ ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ

รายงานผลการทดสอบและวิเคราะห์

ให้แก่

บริษัท เอ็มพลัส ฟิเลตรัน จำกัด

การทดสอบ / วิเคราะห์ ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของ M-ION และ M-XAN

วิธีทดสอบ / วิเคราะห์ Time kill assay (ASTM E2315)

ภาวะการทดสอบ / วิเคราะห์ : อุณหภูมิ .....-.....°C ความชื้นสัมพัทธ์ .....-%

วันที่ทดสอบ / วิเคราะห์ 1 มิถุนายน 2563

ผลการทดสอบ / วิเคราะห์

ผลการวิเคราะห์ ดังแสดงในเอกสารแนบ

ผู้ทดสอบ / วิเคราะห์

นางสาวหนึ่งนุช ไชยวรรณ

นางสาวกมลศรี นวลคำ

ผู้ตรวจสอบ

*Signature*

(ดร. จารุวรรณ สิทธิพล)

ผู้รับรอง

*Signature*  
(ดร. พงศธร ประภักกรกุล)

รักษาการในตำแหน่ง

ผู้อำนวยการศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ

วันที่ 18 มิถุนายน 2563

ผลการทดสอบ หรือ วิเคราะห์นี้ รับรองเฉพาะตัวอย่าง หรือ รายการที่ได้รับไว้เท่านั้น การแก้ไขรายงานนี้ถือเป็นความผิดทางกฎหมาย การนำรายงานนี้ไปโฆษณา คัดถ่ายหรือการนำผลบางส่วน ไปเผยแพร่ต่อสาธารณะต้องได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจากผู้ว่าการ วว.

แก้ไขครั้งที่ : 3

แบบฟอร์มประกาศใช้วันที่ 24 มกราคม 2560

FM-BRC-WI-10-02 (ไทย)

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

35 หมู่ 3 เทคโนโลยีธานี ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120

โทร. (66) 0 2577 9000 อัดโนมติ 90 สาย

โทรสาร (66) 0 2577 9009 E - Mail : tistr.or.th Website : www.tistr.or.th

หน้า 1 ของ 3

วิสัยทัศน์ : เป็นองค์กรชั้นนำระดับอาเซียนในด้านวิจัย พัฒนา และบริการด้านวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและนวัตกรรม

คำขอบริการที่ 63/M051/2

### การทดสอบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของตัวอย่าง

ตัวอย่างทดสอบ 2 ชนิด คือ

1. M-ION
2. M-XAN

วิธีทดสอบ: Time kill assay (ASTM E2315)

แบคทีเรียก่อโรคที่ใช้ทดสอบ: *Escherichia coli* ATCC 8739

*Staphylococcus aureus* ATCC 6538P

### การเตรียมหัวเชื้อของแบคทีเรียก่อโรค (Inoculum):

เพาะเชื้อแบคทีเรียทดสอบบนอาหาร Tryptic Soy Agar นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาบ่ม แตะโคลนของเชื้อมา 1 loopful ใส่ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ เขย่าให้เชื้อกระจายตัวอย่างทั่วถึง จากนั้นเตรียมหัวเชื้อทดสอบโดยเจือจางเชื้อให้มีความขุ่นเท่ากับความขุ่นของสารละลายมาตรฐาน McFarland No. 0.5 ( $\sim 10^8$  โคลน/มิลลิลิตร)

### การเตรียมสารละลายตัวอย่างทดสอบ:

ละลายตัวอย่าง 4 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ จากนั้นปรับปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร เขย่าตัวอย่างให้เข้ากันอย่างทั่วถึง แบ่งสารละลายตัวอย่างทดสอบใส่ในหลอดปราศจากเชื้อ หลอดละ 10 มิลลิลิตร (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ)

### การทดสอบ:

1. ใส่หัวเชื้อทดสอบปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ที่เตรียมไว้ผสมให้เข้ากันอย่างทั่วถึง บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 1, 3, 5 นาที และ 24 ชั่วโมง
2. นับปริมาณเชื้อที่เวลา 0, 1, 3, 5 นาที และ 24 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างที่ทดสอบ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหาร Letheen broth ปริมาตร 9 มิลลิลิตร นับเชื้อแบบ 10 fold serial dilution ด้วยวิธี Pour plate โดยใช้อาหาร Tryptic Soy Agar เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ และบ่มตามสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ ใช้น้ำกลั่นปราศจากเชื้อเป็นสารควบคุม
3. นับจำนวนโคลนที่ปรากฏคำนวณเป็นโคลน/มิลลิลิตร และนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การฆ่าเชื้อดังสมการ

### การคำนวณเปอร์เซ็นต์การฆ่าเชื้อ

ดังสมการต่อไปนี้

$$R = 100 \times \left( 1 - \frac{10}{10^{(C_0 - C_T)}} \right)$$

เมื่อ R = เปอร์เซ็นต์การฆ่าเชื้อ

$C_0$  = ค่าเฉลี่ยของค่า  $\log_{10}$  ของปริมาณเชื้อทดสอบที่นับได้ที่เวลา 0 นาที

$C_T$  = ค่าเฉลี่ยของค่า  $\log_{10}$  ของปริมาณเชื้อทดสอบที่นับได้ที่ระยะเวลาสัมผัสต่างๆ ที่กำหนด

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

35 หมู่ 3 เทคโนโลยีธานี ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120

โทร. (66) 0 2577 9000 อัดโนมัติ 90 สาย

โทรสาร (66) 0 2577 9009 E - Mail : tistr.or.th Website : www.tistr.or.th

วิสัยทัศน์ : เป็นองค์กรชั้นนำระดับอาเซียนในด้านวิจัย พัฒนา และบริการด้านวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและนวัตกรรม



คำขอบริการที่ 63/M051/2

**ผลการทดสอบ:**

ตัวอย่าง	ระยะเวลาที่ทดสอบ	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	
		ปริมาณที่นับได้ (โคโลนี/มิลลิลิตร)	เปอร์เซ็นต์การฆ่าเชื้อ	ปริมาณที่นับได้ (โคโลนี/มิลลิลิตร)	เปอร์เซ็นต์การฆ่าเชื้อ
M-ION	0 นาที	1.80E+04	-	1.92E+04	-
	1 นาที	0	99.994	0	99.995
	3 นาที	0	99.994	0	99.995
	5 นาที	0	99.994	0	99.995
	24 ชั่วโมง	0	99.994	0	99.995
M-XAN	0 นาที	5.75E+06	-	7.36E+06	-
	1 นาที	3.75E+06	25.217	1.55E+02	99.998
	3 นาที	4.03E+06	34.783	0	100
	5 นาที	7.05E+05	87.739	0	100
	24 ชั่วโมง	0	100	0	100

หมายเหตุ ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นของ *Escherichia coli* ATCC 8739 =  $1.93 \times 10^9$  โคโลนี/มิลลิลิตร และ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P =  $9.50 \times 10^8$  โคโลนี/มิลลิลิตร

**สรุปผลการทดลอง:**

ตัวอย่าง M-ION มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 8739 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P ทั้งสองสายพันธุ์โดยมีค่า R เท่ากับ 99.99% ณ. ทุกระยะเวลาสัมผัส ส่วนตัวอย่าง M-XAN มีฤทธิ์การฆ่าเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P ทุกระยะเวลาสัมผัสเท่ากับ 99.99% แต่มีฤทธิ์การฆ่าเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 8739 เท่ากับ 99.99% เฉพาะที่ระยะเวลาสัมผัส 24 ชั่วโมง และมีฤทธิ์การฆ่าเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 8739 โดยมีค่า R น้อยกว่า 99.99% ที่ระยะเวลาสัมผัส 1, 3 และ 5 นาที



สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

35 หมู่ 3 เทคโนโลยีธานี ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120

โทร. (66) 0 2577 9000 อัดโนมัติ 90 สาย

โทรสาร (66) 0 2577 9009 E - Mail : tistr.or.th Website : www.tistr.or.th

หน้า 3 ของ 3