

## ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม

ฉบับที่ ๔๓๖๐ (พ.ศ. ๒๕๕๔)

ออกตามความในพระราชบัญญัติมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

พ.ศ. ๒๕๑๑

เรื่อง กำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

วิธีทดสอบสิ่งทอ

เล่ม ๒๙ การประเมินการต้านแบคทีเรียของสิ่งทอ (วิธีเชิงคุณภาพ)

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๑๕ แห่งพระราชบัญญัติมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม พ.ศ. ๒๕๑๑ รัฐมนตรีว่าการกระทรวงอุตสาหกรรมออกประกาศกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม วิธีทดสอบสิ่งทอ เล่ม ๒๙ การประเมินการต้านแบคทีเรียของสิ่งทอ (วิธีเชิงคุณภาพ) มาตรฐานเลขที่ มอก. ๑๒๑ เล่ม ๒๙ - ๒๕๕๔ ไว้ ดังมีรายการละเอียดต่อท้ายประกาศนี้

ทั้งนี้ ตั้งแต่วันที่ประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๗ กรกฎาคม พ.ศ. ๒๕๕๔

ชัยวุฒิ บรรณวัฒน์

รัฐมนตรีว่าการกระทรวงอุตสาหกรรม

# มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

## วิธีทดสอบสิ่งทอ

### เล่ม 29 การประเมินการต้านแบคทีเรียของสิ่งทอ (วิธีเชิงคุณภาพ)

#### 1. ขอบข่าย

- 1.1 มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนี้กำหนดวิธีทดสอบการประเมินประสิทธิภาพการต้านแบคทีเรียของสิ่งทอ โดยทดสอบผลของการตกแต่งสิ่งทอเพื่อต้านแบคทีเรียในผ้าทอ ผ้าถัก ผ่านอโนวูฟเวน (nonwoven) หรือสิ่งทออื่นๆ ที่มีลักษณะแบน
- 1.2 วิธีทดสอบนี้ใช้ทดสอบผลิตภัณฑ์สิ่งทอที่มีสารตกแต่งสำเร็จเพื่อสุขอนามัยที่มีสมบัติชอบน้ำและอากาศซึมผ่านได้ หรือผลิตภัณฑ์ต้านแบคทีเรียที่ใส่สารต้านแบคทีเรียในเส้นใย ซึ่งการแพร่ของสารต้านแบคทีเรียเข้าไปในอาหารวุ้นเพาะเชื้อ (test agar) จะต้องน้อยที่สุด
- 1.3 วิธีทดสอบนี้ไม่เหมาะกับวัสดุสิ่งทอที่ตกแต่งด้วยสารต้านแบคทีเรียที่เกิดปฏิกิริยากับอาหารวุ้นเพาะเชื้อ

#### 2. บทนิยาม

ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนี้ มีดังต่อไปนี้

- 2.1 ผลการต้านแบคทีเรีย (antibacterial effect) หมายถึง การยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียในภาวะที่เหมาะสมต่อการเติบโตของแบคทีเรีย

#### 3. หลักการทดสอบ

- 3.1 เตรียมจานเพาะเชื้อ (petri dishes) ที่มีอาหารวุ้นเพาะเชื้อสองชั้น ชั้นล่างประกอบด้วยอาหารวุ้นเพาะเชื้อที่ไม่มีแบคทีเรีย ชั้นบนใส่เชื้อ (inoculate) แบคทีเรียชนิดที่เลือกไว้ วางชั้นทดสอบบนอาหารวุ้นเพาะเชื้อชั้นบนให้ทดสอบสิ่งทอทั้งสองด้านโดยแยกจานเพาะเชื้อ ประเมินประสิทธิภาพการต้านแบคทีเรียโดยตรวจพิจารณาการเติบโตของแบคทีเรียในบริเวณที่ชั้นทดสอบสัมผัสอาหารวุ้นเพาะเชื้อ และระยะเขตวงรอบที่ยับยั้งแบคทีเรีย (inhibition zone) ของชั้นทดสอบ (ถ้ามี)

#### 4. เครื่องมือและอุปกรณ์

- 4.1 ตู้อบ (incubator) ควบคุมอุณหภูมิที่  $(37 \pm 1)$  องศาเซลเซียส
- 4.2 หม้อนึ่งอັไค (autoclave) ควบคุมอุณหภูมิที่ 121 องศาเซลเซียส และความดันที่ 205 กิโลพาสคัล
- 4.3 อ่างน้ำ ควบคุมอุณหภูมิที่  $(45 \pm 2)$  องศาเซลเซียส
- 4.4 เครื่องเขย่า (shaker)
- 4.5 กล้องจุลทรรศน์ (microscope)
- 4.6 งานเพาะเชื้อ ทำจากแก้วหรือพอลิสไตรีน (polystyrene) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 9 เซนติเมตร
- 4.7 ตู้ปลอดเชื้อ (biological safety cabinet) ความเข้มแสงภายในตู้ไม่น้อยกว่า 1 000 ลักซ์ พร้อมหลอดยูวี และมีความเร็วลมในแนวตั้ง 0.27 เมตรต่อวินาที ถึง 0.36 เมตรต่อวินาที
- 4.8 เครื่องชั่งไฟฟ้า ที่มีความละเอียดอย่างน้อย 0.01 กรัม
- 4.9 ไมโครปิเปต (micropipette) ขนาด 0.1 มิลลิลิตร ถึง 1 มิลลิลิตร
- 4.10 หัวเข็มเชื้อ (loop) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของหัวประมาณ 4 มิลลิเมตร

#### 5. สารเคมี อาหารเพาะเชื้อ และแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

- 5.1 สารเคมีที่ใช้ต้องเป็นระดับคุณภาพงานวิเคราะห์ (analytical grade) และน้ำกลั่น หรือน้ำชนิดอื่นที่มีคุณภาพเทียบเท่า น้ำกลั่น
  - 5.1.1 สารละลายสำหรับย้อมสีแกรมของแบคทีเรีย
    - 5.1.1.1 สารละลายสีคริสตัลไวโอเลต (crystal violet)
    - 5.1.1.2 สารละลายลูกอลไอโอดีน (Iugol's iodine)
    - 5.1.1.3 เอทานอล ร้อยละ 95
    - 5.1.1.4 สารละลายสีซาฟรานิน (safranin)
- 5.2 อาหารเพาะเชื้อและวิธีเตรียม
  - 5.2.1 อาหารวุ้นเพาะเชื้อแห้ง (dry agar) อาจเลือกใช้อาหารเพาะเชื้อสำเร็จรูปที่เหมาะสมกับแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ หรือปรับสูตร หรือใช้สารอื่นตามความเหมาะสม และระบุในการรายงานผล  
**หมายเหตุ** อาหารเพาะเชื้อสำเร็จรูปที่มีจำหน่ายทางการค้า เช่น *Trypticase soy agar / broth, Tryptic soy agar / broth, CASO agar / broth, Tryptone soya agar / broth*

## 5.2.2 อาหารเหลวเพาะเชื้อ (nutrient broth) ประกอบด้วย

ทริปโทนเปปโทน (tryptone peptone)	17	กรัม
ไฟโทนเปปโทน (phytone peptone)	3	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride)	5	กรัม
ได-โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (di-potassium hydrogen phosphate)	2.5	กรัม
เดกซ์โทรส (dextrose)	2.5	กรัม
น้ำกลั่น	1 000	มิลลิลิตร

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น ให้ความร้อนจนกระทั่งส่วนประกอบทั้งหมดละลาย นำไปทำไ้เชื้อ (sterilize) ในหม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 205 กิโลพาสคัล เป็นเวลา 15 นาที หลังจากการทำไ้เชื้อ (sterilization) ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเหลวเพาะเชื้อ ควรเป็น  $(7.3 \pm 0.1)$  ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

## 5.2.3 อาหารวุ้นเพาะเชื้อ ประกอบด้วย

ทริปโทนเปปโทน	15	กรัม
ไฟโทนเปปโทน	5	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	5	กรัม
อะการ์ - อะการ์ (agar-agar)	15	กรัม
น้ำกลั่น	1 000	มิลลิลิตร

## 5.3 แบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

5.3.1 แบคทีเรียชนิดแกรมบวก (gram positive) ให้ใช้ *สตาฟีโลค็อกคัส ออเรียส* (*Staphylococcus aureus*) American Type Culture Collection No. 6538 (ATCC 6538) หรือ The Netherlands Culture Collection of Bacteria No. 46064 (NCCB 46064) หรือ Department of Medical Sciences Thailand Culture Collection of Bacteria No. 8013 (DMST 8013)

5.3.2 แบคทีเรียชนิดแกรมลบ (gram negative) ให้เลือกใช้ 1 สายพันธุ์ (จากข้อ 5.3.2.1 หรือ ข้อ 5.3.2.2) ดังนี้

5.3.2.1 *เอสเชอริเชีย โคลิ* (*Escherichia coli*)

American Type Culture Collection No. 11229 (ATCC 11229) หรือ

The Netherlands Culture Collection of Bacteria No. 1500 (NCCB 1500) หรือ

Department of Medical Sciences Thailand Culture Collection of Bacteria No. 4212 (DMST 4212)

5.3.2.2 *เคลบเซลลา นิวโมนีไอ* (*Klebsiella pneumoniae*)

American Type Culture Collection No. 4352 (ATCC 4352) หรือ

The Netherlands Culture Collection of Bacteria No. 89160 (NCCB 89160)

**ข้อควรระวัง** แบคทีเรียบางชนิดที่ใช้ในการทดสอบนี้อาจก่อโรคทำให้เกิดความเจ็บป่วยได้ ผู้ทดสอบต้องมีความรู้ในด้านจุลชีววิทยา และความปลอดภัยในการปฏิบัติงาน

## 6. การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

### 6.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย (bacteria cultures)

วิธีที่กำหนดนี้สำหรับการเตรียมแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบจากเชื้อต้นตอ (stock) และจากแบคทีเรียสายพันธุ์ทดสอบ (test strain of bacteria) ห้องปฏิบัติการควรวางวิธีการเก็บรักษาสายพันธุ์ลินทรีซ์ตามที่กำหนดใน EN 12353

### 6.2 การเพาะเชื้อจากแบคทีเรียที่ทำให้แห้งเยือกแข็ง (lyophilized bacteria)

6.2.1 ใส่แบคทีเรียที่ทำให้แห้งเยือกแข็งในอาหารเหลวเพาะเชื้อที่มีปริมาณเพียงพอ เขย่าให้แบคทีเรียกระจายแขวนลอยในอาหารเหลวเพาะเชื้อ นำไปบ่มเพาะเชื้อ (incubate) ที่อุณหภูมิ  $(37 \pm 1)$  องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้อฟื้นตัว

6.2.2 นำเชื้อที่ได้ (ข้อ 6.2.1) ไปทำการถ่ายเชื้อต่อช่วง (liquid to liquid transfer) 3 ครั้ง ถึง 4 ครั้ง โดยใส่เชื้อลงในอาหารเหลวเพาะเชื้อที่เตรียมไว้เพื่อให้ได้ปริมาณเชื้อใช้งานตามที่กำหนด ( $1 - 5 \times 10^8$  cfu/ml) การถ่ายเชื้อต่อช่วงต้องไม่เกิน 3 วัน เพื่อให้มั่นใจว่าเชื้อที่ได้ซึ่งนำมาใช้ทดสอบไม่มีการปนเปื้อน หากไม่สามารถทำได้ต่อเนื่องอาจเก็บเชื้อที่มีอายุ 16 ชั่วโมง ถึง 24 ชั่วโมง ในตู้เย็นอุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส ถึง 4 องศาเซลเซียส ภายในเวลาไม่เกิน 3 วัน และต้องทำการถ่ายเชื้อลงในอาหารเพาะเชื้อใหม่ถ้าเชื้อนั้นอายุเกินกว่า 24 ชั่วโมง

**หมายเหตุ** cfu (colony – forming unit) หมายถึง หน่วยวัดจำนวนหรือปริมาณแบคทีเรีย โดยอาศัยสมมติฐานว่าแบคทีเรียหนึ่งตัวสร้างโคโลนีได้หนึ่งโคโลนี

6.2.3 ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อ โดยนำเชื้อจากข้อ 6.2.1 ไปขีดบนจานเพาะเชื้อ (streak plate) ที่มีอาหารวุ้นเพาะเชื้อ นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ  $(37 \pm 1)$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบยืนยันลักษณะเฉพาะของเชื้อโดยการย้อมสีแกรมของแบคทีเรียด้วยสารละลายสำหรับย้อมสีแกรมของแบคทีเรีย (ข้อ 5.1.1) เกลี่ย (smear) เชื้อบนแผ่นสไลด์ ตรึงเชื้อ (fix) ให้ติดแน่นกับสไลด์ เพื่อไม่ให้หลุดออกขณะย้อมสี โดยการผ่านสไลด์บนเปลวไฟอย่างรวดเร็ว 2 ครั้ง ถึง 3 ครั้ง หยดสารละลายสีย้อมสีคริสตัลไวโอเล็ตบนเชื้อให้ท่วมทิ้งไว้ 1 นาที เทสารละลายสีทิ้ง หยดสารละลายลูคอลลไอโอดีนบนเชื้อ ทิ้งไว้ 1 นาที เทสารละลายสีทิ้ง หยดเอทานอล ร้อยละ 95 ลงบนเชื้อ ทิ้งไว้ประมาณ 15 วินาที เพื่อล้างสารละลายสี ล้างด้วยน้ำสะอาด หยดสารละลายสีซาฟรานินบนเชื้อ ประมาณ 15 วินาที ถึง 30 วินาที ล้างด้วยน้ำสะอาดและซับให้แห้ง ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ ผลจากการย้อมสีจะพบว่าแบคทีเรียชนิดแกรมบวกติดสีม่วงของสารละลายสีย้อมสีคริสตัลไวโอเล็ต และแบคทีเรียชนิดแกรมลบติดสีแดงของสารละลายสีซาฟรานิน

6.2.4 ทวนสอบความบริสุทธิ์โคโลนีของเชื้ออีกครั้ง โดยการนำเชื้อที่ได้จากการถ่ายต่อช่วงครั้งสุดท้ายไปเพาะบนอาหารวุ้นเพาะเชื้อในจานเพาะเชื้อ โดยวิธีกระจายเชื้อ (spread plate) ตรวจสอบยืนยันลักษณะเฉพาะของเชื้อโดยตรวจด้วยการย้อมสีแกรมของแบคทีเรียและตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

- 6.3 การเพาะเชื้อจากแบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหารวุ้นเพาะเชื้อ นำเชื้อ (ที่เลี้ยงบนอาหารวุ้นเพาะเชื้อ) ที่มีอายุไม่เกิน 4 สัปดาห์ ใส่เชื้อลงในอาหารเหลวเพาะเชื้อ เขย่าให้เชื้อกระจายในอาหารเหลวเพาะเชื้อ แล้วนำไปถ่ายเชื้อต่อช่วงตามวิธีที่กำหนดในข้อ 6.2.2 ถึงข้อ 6.2.4
- 6.4 เมื่อแบคทีเรียสำหรับใช้งาน (working culture) มีอายุครบ 1 สัปดาห์ ให้ทำลายทั้งหมด และเตรียมเชื้อแบคทีเรียสำหรับใช้งานขึ้นมาใหม่จากสายพันธุ์ต้นตอ (stock strain) ที่เลี้ยงบนอาหารวุ้นเพาะเชื้อ (ข้อ 6.3) หรือจากแบคทีเรียที่ทำให้แห้งเยือกแข็ง (ข้อ 6.2) หลังจากทำการทดสอบเป็นเวลา 6 เดือน แบคทีเรียทั้งหมดจะต้องเพาะเชื้อใหม่จากแบคทีเรียที่ทำให้แห้งเยือกแข็ง

## 7. ภาวะทดสอบ

- 7.1 ปรับภาวะตัวอย่างทดสอบ (condition) ในงานเพาะเชื้อที่ผ่านการทำให้เชื้อแล้ว เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ถึง 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องก่อนทำการทดสอบ

## 8. การเตรียมชิ้นทดสอบ

- 8.1 การเตรียมชิ้นทดสอบ  
ตัดชิ้นทดสอบเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง  $(25 \pm 5)$  มิลลิเมตร จำนวน 4 ชิ้น เพื่อใช้ทดสอบทั้งสองด้านๆ ละ 2 ชิ้น  
ในกรณีที่ชิ้นทดสอบไม่สามารถสัมผัสกับอาหารได้ดี เช่น เป็นเส้นใยหรือผ้าตัดขน หรือผ้าที่มีขนยาว หรือเปียกน้ำได้ยากและอากาศซึมผ่านได้ยาก ให้เตรียมชิ้นทดสอบตามภาคผนวก ก.
- 8.2 ชิ้นทดสอบสำหรับการทดสอบจะต้องไม่ผ่านการทำให้เชื้อ (unsterilized specimens) หากการเตรียมชิ้นทดสอบมีการเบี่ยงเบนจากที่กำหนดต้องระบุในรายงานผล  
**หมายเหตุ** สมบัติของวัสดุที่นำมาทดสอบหรือสมบัติการต้านแบคทีเรียอาจเปลี่ยนแปลงไป ถ้าชิ้นทดสอบผ่านการทำให้เชื้อ
- 8.3 วัสดุสำหรับการทดสอบควบคุม (blind test)  
ให้เตรียมชิ้นทดสอบสำหรับการทดสอบควบคุม โดยมีคุณภาพและการตกแต่งเช่นเดียวกับชิ้นทดสอบแต่ไม่มีสารต้านแบคทีเรีย แต่ถ้าไม่สามารถจัดหาได้ให้ใช้ผ้าฝ้ายที่ไม่ได้ตกแต่งด้วยสารต้านแบคทีเรียเพื่อใช้ในการทดสอบควบคุม

## 9. การทดสอบ

- 9.1 การเตรียมอาหารวุ้นเพาะเชื้อชั้นล่างในงานเพาะเชื้อ  
เทอาหารวุ้นเพาะเชื้อที่ผ่านการทำให้เชื้อแล้วปริมาตร  $(10 \pm 0.1)$  มิลลิลิตร ลงในงานเพาะเชื้อที่ผ่านการทำให้เชื้อแต่ละจาน แล้วปล่อยให้อาหารแข็งตัว

- 9.2 การเตรียมอาหารวุ้นเพาะเชื้อชั้นบนในงานเพาะเชื้อ  
เตรียมอาหารวุ้นเพาะเชื้อปริมาณที่เพียงพอ และทำให้เย็นลงในอ่างน้ำที่มีอุณหภูมิ  $(45 \pm 2)$  องศาเซลเซียส จากนั้น ปิเปิดเชื้อทดสอบ (ข้อ 6.2.2 หรือ ข้อ 6.3) ปริมาตร  $(1 \pm 0.1)$  มิลลิลิตร ซึ่งมีจำนวนแบคทีเรียที่พร้อมใช้งาน  $(1-5 \times 10^8 \text{ cfu/ml})$  ใส่ลงในอาหารวุ้นเพาะเชื้อ 150 มิลลิลิตร เขย่าอย่างแรงเพื่อกระจายแบคทีเรียให้ทั่วถึง แล้วเทอาหารที่มีแบคทีเรีย  $(5 \pm 0.1)$  มิลลิลิตร ลงบนงานเพาะเชื้อที่มีอาหารวุ้นเพาะเชื้อชั้นล่าง ปล่อยให้อาหารแข็งตัว นำไปทดสอบภายใน 1 ชั่วโมง
- 9.3 เนื่องจากผิวหน้าของงานอาหารวุ้นเพาะเชื้อมักจะแห้ง และบริเวณต่างๆ อาจแห้งไม่เท่ากัน ทำให้แบคทีเรียเติบโตไม่สม่ำเสมอ ในการเตรียมงานอาหารวุ้นเพาะเชื้อในการทดสอบแต่ละครั้งต้องไม่มากกว่า 50 งาน (เช่น การเตรียมอาหารเพาะเชื้อครั้งละไม่เกิน 500 มิลลิลิตร และมีปริมาณอาหารวุ้นเพาะเชื้อชั้นละไม่เกิน 250 มิลลิลิตร)
- 9.4 ให้กดชิ้นทดสอบที่นำมาจากผ้าทอ ผ้าถัก และสิ่งทออื่นที่มีผิวแบนราบลงบนอาหารวุ้นเพาะเชื้อ โดยใช้ปากคีบ ที่ผ่านการทำให้เชื้อหรือแห้งแล้วให้ชิ้นทดสอบสัมผัสกับอาหารวุ้นเพาะเชื้ออย่างทั่วถึง ถ้าจำเป็นให้วางแท่งแก้วบนชิ้นทดสอบเพื่อให้มั่นใจว่าชิ้นทดสอบสัมผัสกับอาหารวุ้นเพาะเชื้อ  
*หมายเหตุ สำหรับวัสดุอื่นๆ อาจต้องใช้วิธีการพิเศษ (ภาคผนวก ก.)*
- 9.5 นำไปบ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 18 ชั่วโมง ถึง 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ  $(37 \pm 1)$  องศาเซลเซียส ทันที่ ตรวจสอบการเติบโตของแบคทีเรีย และต้องแน่ใจว่าชิ้นทดสอบสัมผัสกับอาหารเพาะเชื้อตลอดเวลาในระหว่างการบ่ม ถ้ามีการเบี่ยงเบนเกิดขึ้นให้ระบุในรายงานผลการทดสอบ

## 10. การประเมินผลทดสอบ

- 10.1 ตรวจสอบว่ามี การเติบโตของแบคทีเรียในบริเวณสัมผัส (contact zone) ระหว่างอาหารวุ้นเพาะเชื้อกับชิ้นทดสอบหรือไม่ และมีระยะเขตวงรอบชิ้นทดสอบที่ยับยั้งแบคทีเรียหรือไม่
- 10.2 คำนวณระยะเขตวงรอบชิ้นทดสอบที่ยับยั้งแบคทีเรีย (บริเวณใกล้ขอบของชิ้นทดสอบที่ไม่มีแบคทีเรียเติบโต) โดยใช้สูตร

$$H = \frac{(D - d)}{2}$$

$H$  คือ ระยะเขตวงรอบชิ้นทดสอบที่ยับยั้งแบคทีเรีย เป็นมิลลิเมตร

$D$  คือ เส้นผ่านศูนย์กลางรวมของชิ้นทดสอบและระยะเขตวงรอบชิ้นทดสอบที่ยับยั้งแบคทีเรีย เป็นมิลลิเมตร

$d$  คือ เส้นผ่านศูนย์กลางของชิ้นทดสอบ เป็นมิลลิเมตร

- 10.3 หลังจากวัดระยะเขตวงรอบชิ้นทดสอบที่ยับยั้งแบคทีเรียแล้วใช้ปากคีบนำชิ้นทดสอบออกจากอาหารวุ้นเพาะเชื้อ และตรวจสอบบริเวณใต้ชิ้นทดสอบที่สัมผัสกับอาหารวุ้นเพาะเชื้อเพื่อดูการเติบโตของแบคทีเรีย ด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 20 เท่า และเปิดให้แสงสว่างจากด้านล่าง

## 10.4 ประเมินผลการต้านแบคทีเรียของซันทศอบที่ตกแต่งด้วยสารต้านแบคทีเรีย โดยใช้ตารางที่ 1

## ตารางที่ 1 การประเมินผลการต้านแบคทีเรีย

(ข้อ 10.4)

ค่าเฉลี่ยของระยะเขต วงรอบซันทศอบ ที่ยับยั้งแบคทีเรีย (มิลลิเมตร)	การเติบโตของ แบคทีเรีย <sup>ก)</sup>	รายละเอียด	การประเมิน
>1	ไม่มี	- ระยะเขตวงรอบซันทศอบที่ยับยั้งแบคทีเรีย มากกว่า 1 มิลลิเมตร - ไม่มีการเติบโตของแบคทีเรีย <sup>ข)</sup>	ประสิทธิภาพดี
1 – 0	ไม่มี	- ระยะเขตวงรอบซันทศอบที่ยับยั้งแบคทีเรียจนถึง 1 มิลลิเมตร - ไม่มีการเติบโตของแบคทีเรีย <sup>ข)</sup>	ประสิทธิภาพดี
0	ไม่มี	- ไม่มีระยะเขตวงรอบซันทศอบที่ยับยั้งแบคทีเรีย - ไม่มีการเติบโตของแบคทีเรีย <sup>ข)</sup>	ประสิทธิภาพดี
0	เล็กน้อย	- ไม่มีระยะเขตวงรอบซันทศอบที่ยับยั้งแบคทีเรีย - มีโคโลนีเล็กน้อย - มีการเติบโตของแบคทีเรียเล็กน้อย <sup>ข)</sup>	ประสิทธิภาพ จำกัด
0	ปานกลาง	- ไม่มีระยะเขตวงรอบซันทศอบที่ยับยั้งแบคทีเรีย - มีการเติบโตลดลงเป็นครั้งหนึ่งเมื่อเทียบกับซันทศอบควบคุม <sup>ข)</sup>	ประสิทธิภาพ ไม่เพียงพอ
0	หนาแน่น	- ไม่มีระยะเขตวงรอบซันทศอบที่ยับยั้งแบคทีเรีย - การเติบโตไม่ลดลงหรือมีการลดลงเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับซันทศอบควบคุม	ประสิทธิภาพ ไม่เพียงพอ

## หมายเหตุ

- ก) การเติบโตของแบคทีเรียในอาหารวุ้นเพาะเชื้อได้ซันทศอบ
- ข) นำระยะเขตวงรอบซันทศอบที่ยับยั้งแบคทีเรียมาประกอบการพิจารณา ระยะเขตวงรอบที่กว้างอาจบ่งชี้ถึง สารต้านแบคทีเรียบางชนิดหรือมีการฉีกสารบนผ้าไม่แน่นพอ
- ค) การไม่มีการเติบโตของแบคทีเรียได้ซันทศอบและไม่มีระยะเขตวงรอบซันทศอบที่ยับยั้งแบคทีเรีย อาจมี ประสิทธิภาพที่ดี เพราะระยะเขตวงรอบซันทศอบที่ยับยั้งแบคทีเรียอาจไม่เกิดขึ้นเนื่องจากสารต้านแบคทีเรียมีการ แพร่ที่น้อย
- ง) “เทียบเท่ากับการไม่เติบโตของแบคทีเรีย” บ่งชี้ประสิทธิภาพที่จำกัด
- จ) การเติบโตของแบคทีเรียลดลง หมายถึง จำนวนโคโลนี (กลุ่มแบคทีเรีย) ลดลง หรือขนาดโคโลนีลดลง



## 11. การสรุปผล

- 11.1 เมื่อประเมินผลตามข้อ 10.4 การด้านแบคทีเรียจะต้องได้ประสิทธิภาพดีทั้งแบคทีเรียชนิดแกรมบวกและแบคทีเรียชนิดแกรมลบ
- 11.2 ให้ประเมินผลขึ้นทดสอบแต่ละด้านแยกจากกัน

## 12. การรายงานผล

ให้ระบุรายละเอียดในรายงานผลการทดสอบ ดังต่อไปนี้

- 12.1 มาตรฐานวิธีทดสอบที่ใช้ และวันที่ทดสอบ
- 12.2 แบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ
- 12.3 สรุปผลการทดสอบ (จากการประเมินตามตารางที่ 1)
- 12.4 ลักษณะของขึ้นทดสอบ
- 12.5 ขนาด จำนวน และการเตรียมขึ้นทดสอบ
- 12.6 กระบวนการเตรียมขึ้นทดสอบก่อนการทดสอบ (เช่น การซั๊ก การผ่านแสง การตากแห้ง)
- 12.7 การเก็บรักษาขึ้นทดสอบก่อนทำการทดสอบ
- 12.8 สิ่งที่เบี่ยงเบนไปจากมาตรฐาน

## ภาคผนวก ก.

คำแนะนำการเตรียมชิ้นทดสอบในกรณีพิเศษ

(ข้อ 8.1)

- ก.1 สิ่งทอหรือวัสดุที่นำมาทดสอบซึ่งเปียกน้ำได้ยากและอากาศซึมผ่านได้ยาก หรือมีการสัมผัสระหว่างอาหารเพาะเชื้อและชิ้นทดสอบได้ไม่ดีพอ ให้ดัดแปลงรูปร่างชิ้นทดสอบตามความเหมาะสม
- ก.2 ชิ้นทดสอบที่เป็นเส้นใยสั้นหรือผ้าตัดขน หรือผ้าที่มีขนยาว ควรตัดเป็นชิ้นเล็กๆ และทำให้เป็นชั้นหนาวางบนอาหารวุ้นเพาะเชื้อ เพื่อสะดวกในการปฏิบัติงานให้ใช้วงแหวนแก้ว (glass ring) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 25 มิลลิเมตร เป็นกรอบในการวางชิ้นทดสอบให้เต็มวงแล้วนำวงแหวนแก้วออก สำหรับชิ้นทดสอบผ้าที่มีขนยาวไม่สม่ำเสมอ ควรตัดขนผ้าให้ยาวเท่ากันแล้ววางลงบนอาหารวุ้นเพาะเชื้อให้สัมผัสกับผิวหนังอาหาร ให้ทดสอบเฉพาะส่วนของตัวอย่างที่มีสารตกค้าง
- หมายเหตุ 1. วิธีทดสอบนี้สามารถใช้ทดสอบเส้นด้ายที่ประกอบด้วยเส้นใยที่มีสารต้านแบคทีเรียและที่ไม่มีสารต้านแบคทีเรียได้
2. ชิ้นทดสอบที่ถูกเคลือบอาจยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียได้เนื่องจากการขาดอากาศ ในกรณีนี้ ควรตัดชิ้นทดสอบเป็นเส้นเล็กๆ และวางเป็นกลุ่มบนอาหารเพาะเชื้อ โดยมีช่องว่างเล็กน้อยระหว่างแต่ละเส้น