



บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. การเตรียมเชื้อและปริมาณเชื้อที่เหมาะสมสำหรับเตรียมชุดตรวจหาชาติ้านจุลชีพ ตกค้างในน้ำนม

1.1 ผลจากการเตรียมเชื้อวิธีต่าง ๆ

ผลการนับเชื้อที่ได้จากการเตรียมโดยวิธีต่าง ๆ 8 วิธี จากการทำ dilution plate count บน assay medium (ทุกวิธีบ่มเพาะเชื้อที่ $65^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ซ.) ได้ปริมาณเชื่อดังนี้

-การเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวปริมาตร 10 ลิตร โดยแบ่งเลี้ยงในขวด
ฝาเกลียวขนาด 2,000 มล. บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อขวดละ 1,500 มล. เป็นเวลา 72 ชม.
ผ่านการอุ่นและไม่ผ่านการอุ่นที่อุณหภูมิ $95^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ซ. ได้ปริมาณเชื้อ 2×10^4 CFU/ml และ
 2.5×10^5 CFU/ml

-การเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวตามวิธีข้างต้นเป็นเวลา 18-20 ชม. ผ่านการอุ่นและไม่ผ่านการอุ่นที่อุณหภูมิ $95^{\circ}\pm 1^{\circ}$ ซ. ได้ปริมาณเชื้อ 3.8×10^4 CFU/ml และ 3.5×10^5 CFU/ml

-การเลี้ยงเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งในงานเพาะเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 90 มม. จำนวน 500 เฟลท เป็นเวลา 72 ชม. ผ่านการอุ่นและไม่ผ่านการอุ่นที่อุณหภูมิ $95^{\circ}\pm 1^{\circ}$ ซ. ได้ปริมาณเชื้อ 1.8×10^7 CFU/ml และ 6.2×10^8 CFU/ml

-การเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตามวิธีข้างต้นเป็นเวลา 18-20 ชม. ผ่านการอุ่นและไม่ผ่านการอุ่นที่อุณหภูมิ $95^{\circ}\pm 1^{\circ}$ ซ. ได้ปริมาณเชื้อ 3.6×10^8 CFU/ml และ 1.12×10^{14} CFU/ml

จากผลการย้อมแกรมเชื้อที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งนาน 18-20 ชม. ไม่ผ่านการอุ่นที่อุณหภูมิ $95^{\circ}\pm 1^{\circ}$ ซ. อยู่ใน vegetative form เป็นส่วนใหญ่ ย้อมติดสีแกรมบวกและลบ และมีบางส่วนอยู่ใน endospore form ในขณะที่เชื้อที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวจะย้อมติดสีแกรมลบทั้งหมด

เชื้อที่ได้จากการเลี้ยงนาน 72 ชม. ทั้งที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งและอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวไม่ผ่านการอุ่นที่อุณหภูมิ $95^{\circ}\pm 1^{\circ}$ ซ. อยู่ใน vegetative form ย้อมติดสีแกรมลบ มีบางส่วนอยู่ใน endospore form

จากการย้อมด้วยสีเมลาโคท์กรีน พบว่าเชื้อที่เลี้ยงจากวิธีต่าง ๆ และผ่านการอุ่นที่อุณหภูมิ $95^{\circ} \pm 1^{\circ}$ C. นาน 30 นาที อยู่ใน endospore form

การเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งนาน 18-20 ชม. เป็นวิธีที่ได้ปริมาณเชื้อ (CFU/ml) มากที่สุด เชื้อส่วนใหญ่อยู่ใน vegetative form ย้อมติดสีแกรมบวกและแกรมลบ มีเชื้อส่วนน้อยที่สร้างเอนโดสปอร์ ในขณะที่การเลี้ยงเชื้อด้วยวิธีเดียวกันนาน 72 ชม. ซึ่งได้ปริมาณเชื้อมากเป็นอันดับสองจะได้เชื้อที่ย้อมติดสีแกรมลบทั้งหมด การเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวได้ปริมาณเชื้อต่ำกว่าการเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเมื่อใช้เวลาในการเลี้ยงเชื่อนานเท่ากัน



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.2 ผลการทดสอบการเจริญของเชื้อที่ได้จากการเตรียมแต่ละวิธี

เชื้อที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวเป็นเวลา 72 ชม. โดยไม่ผ่านการอุ่นที่อุณหภูมิ 95° ซ. หลังล้างเก็บเชื้อ เมื่อดูดแยกเชื้อดังกล่าวให้มีปริมาตร 0.4, 0.2 และ 0.1 มล. ได้จำนวนเชื้อ 1×10^6 , 5×10^5 และ 2.5×10^5 CFU/ml ตามลำดับ

เชื้อที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวเป็นเวลา 72 ชม. และผ่านการอุ่นที่อุณหภูมิ 95° ซ. หลังล้างเก็บเชื้อ เมื่อดูดแยกเชื้อดังกล่าวให้มีปริมาตร 0.4, 0.2 และ 0.1 มล. ได้จำนวนเชื้อ 8×10^3 , 4×10^3 และ 2×10^3 CFU/ml ตามลำดับ

เชื้อที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวเป็นเวลา 18-20 ชม. โดยไม่ผ่านการอุ่นที่อุณหภูมิ 95° ซ. หลังล้างเก็บเชื้อ เมื่อดูดแยกเชื้อดังกล่าวให้มีปริมาตร 0.4, 0.2 และ 0.1 มล. ได้จำนวนเชื้อ 1.4×10^5 , 7×10^4 และ 3.5×10^4 CFU/ml ตามลำดับ

เชื้อที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวเป็นเวลา 18-20 ชม. และผ่านการอุ่นที่อุณหภูมิ 95° ซ. หลังล้างเก็บเชื้อ เมื่อดูดแยกเชื้อดังกล่าวให้มีปริมาตร 0.4, 0.2 และ 0.1 มล. ได้จำนวนเชื้อ 1.5×10^4 , 7.3×10^3 และ 3.8×10^3 CFU/ml ตามลำดับ

เชื้อที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเป็นเวลา 72 ชม. โดยไม่ผ่านการอุ่นที่อุณหภูมิ 95° ซ. หลังล้างเก็บเชื้อ เมื่อดูดแยกเชื้อดังกล่าวให้มีปริมาตร 0.4, 0.2 และ 0.1 มล. ได้จำนวนเชื้อ 2.4×10^8 , 1.2×10^8 และ 6×10^7 CFU/ml ตามลำดับ

เชื้อที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเป็นเวลา 72 ชม. และผ่านการอุ่นที่อุณหภูมิ 94° ซ. หลังล้างเก็บเชื้อ เมื่อดูดแยกเชื้อดังกล่าวให้มีปริมาตร 0.4, 0.2 และ 0.1 มล. ได้จำนวนเชื้อ 7.2×10^6 , 3.6×10^5 และ 1.8×10^5 CFU/ml ตามลำดับ

เชื้อที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเป็นเวลา 18-20 ชม. โดยไม่ผ่านการอุ่นที่อุณหภูมิ 95° ซ. หลังล้างเก็บเชื้อ เมื่อดูดแยกเชื้อดังกล่าวให้มีปริมาตร 0.4, 0.2 และ 0.1 มล. ได้จำนวนเชื้อ 4.8×10^{13} , 2.2×10^{12} และ 1.1×10^{12} CFU/ml ตามลำดับ

เชื้อที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเป็นเวลา 18-20 ชม. และผ่านการอุ่นที่อุณหภูมิ 95° ซ. หลังล้างเก็บเชื้อ เมื่อดูดแยกเชื้อดังกล่าวให้มีปริมาตร 0.4, 0.2 และ 0.1 มล. ได้จำนวนเชื้อ 1.4×10^8 , 7×10^7 และ 3.5×10^7 CFU/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 9-12)

เวลาอ่านผล (เวลาที่ใช้ในการเจริญ) ของชุดตรวจ 432 ชุด ซึ่งเตรียมจากการผสมเชื้อที่ได้จากการเตรียมแต่ละวิธีปริมาตร 0.4, 0.2 และ 0.1 มล. ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ 18 สูตร ภายหลังการป่มที่ $65^\circ \pm 1^\circ$ ซ. แสดงในตารางที่ 9-12

จากตารางที่ 9-12 เชื้อที่ได้จากการเลี้ยงโดยวิธีที่ 8 (เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งที่อุณหภูมิ $65^\circ \pm 1^\circ$ ซ. นาน 18-20 ชม.) ใช้เวลาในการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆที่ใช้ทดสอบเร็วที่สุด (อินดิเคเตอร์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเร็วที่สุด) เชื้อที่เตรียมจากวิธีการต่างกันแต่มีปริมาณ (CFU/ml) ใกล้เคียงกัน มีระยะเวลาการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆที่ใช้ทดสอบใกล้เคียงกัน

เวลาที่ใช้ในการเจริญของ endospore และ vegetative cell ที่มี viable count ใกล้เคียงกันไม่แตกต่างกัน และปริมาณเชื้อที่ทำให้สามารถอ่านผลการเจริญของเชื้อได้ ภายใน 3-4 ชม. คือ 10^6 - 10^8 CFU/mL

ผลการทดสอบเชื้อที่ได้จากการเตรียมแต่ละวิธีในอาหารเลี้ยงเชื้อจำนวน 18 สูตรพบว่า เชื้อที่ทดสอบเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 1-5 และอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 13-18 โดยระยะเวลาที่อินดิเคเตอร์ในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 กลุ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลือง น้อยกว่าเวลาที่อินดิเคเตอร์ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 7-12 และเชื้อเจริญได้น้อยมากในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 6



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 9 ความเร็วในการเจริญของ *B. steurothermophilus* var. *calidolactis* ที่เตรียมจาก
Broth media 72 ชั่วโมงในอาหารเลี้ยงเชื้อต่างๆ

อาหารเลี้ยงเชื้อ	B3 [*]			B3H ^{**}		
	0.4ml	0.2ml	0.1ml	0.4ml	0.2ml	0.1ml
	1×10^6	5×10^5	2.5×10^5	8×10^3	4×10^3	2×10^3
1	3:00 ^{***}	4:00	>4	>5	>5	>5
2	3:00	3:30	>4	>5	>5	>5
3	3:30	4:00	>4	>5	>5	>5
4	2:30	3:30	>4	>5	>5	>5
5	3:20	3:30	>4	>5	>5	>5
6	>4	>4	>4	>5	>5	>5
7	>4	>4	>4	>5	>5	>5
8	>4	>4	>4	>5	>5	>5
9	>4	>4	>4	>5	>5	>5
10	>4	>4	>4	>5	>5	>5
11	>4	>4	>4	>5	>5	>5
12	>4	>4	>4	>5	>5	>5
13	3:30	3:45	4:00	>5	>5	>5
14	3:30	3:45	4:00	>5	>5	>5
15	3:45	>4	>4	>5	>5	>5
16	3:30	3:45	>4	>5	>5	>5
17	4:00	>4	>4	>5	>5	>5
18	3:45	>4	>4	>5	>5	>5

* เลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวขนาด 72 ชม.

** เลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวขนาด 72 ชม. อุณหภูมิ $95 \pm 1^{\circ}$ ซ. 30 นาที

*** ชั่วโมง

ตารางที่ 10 ความเร็วในการเจริญของ *B. steerothemophilus* var. *calidolactis* ที่เตรียมจาก
Broth media 18-20 ชั่วโมงในอาหารเลี้ยงเชื้อต่าง ๆ

อาหารเลี้ยงเชื้อ	B1			B1H ^{***}		
	0.4ml	0.2ml	0.1ml	0.4ml	0.2ml	0.1ml
	1.4×10^5	7×10^4	3.5×10^4	1.5×10^4	7.5×10^3	3.8×10^3
1	3:30 ^{***}	>4	>4	>4	>4	>4
2	3:30	>4	>4	>4	>4	>4
3	4:00	>4	>4	>4	>4	>4
4	4:00	>4	>4	>4	>4	>4
5	3:30	4:00	>4	>4	>4	>4
6	>4	>4	>4	>4	>4	>4
7	>4	>4	>4	>4	>4	>4
8	>4	>4	>4	>4	>4	>4
9	>4	>4	>4	>4	>4	>4
10	>4	>4	>4	>4	>4	>4
11	>4	>4	>4	>4	>4	>4
12	>4	>4	>4	>4	>4	>4
13	3:30	4:00	4:00	>4	>4	>4
14	3:30	4:00	>4	>4	>4	>4
15	3:30	4:00	4:00	>4	>4	>4
16	2:45	3:00	>4	>4	>4	>4
17	3:15	3:45	>4	>4	>4	>4
18	3:15	3:45	>4	>4	>4	>4

* เลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณ 18-20 ชม.

** เลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณ 18-20 ชม. อุณหภูมิ $95^{\circ} \pm 1^{\circ}$ พ. 30 นาที

*** ชั่วโมง

ตารางที่ 11 ความเร็วในการเจริญของ *B. stearotherophilus* var. *calidolactis* ที่เตรียมจาก
Agar media 72 ชั่วโมงในอาหารเลี้ยงเชื้อต่างๆ

อาหารเลี้ยงเชื้อ	A3			A3H**		
	0.4ml	0.2ml	0.1ml	0.4ml	0.2ml	0.1ml
	2.4×10^5	1.2×10^5	6×10^7	7.2×10^6	3.6×10^6	1.8×10^5
1	ND	4:00***	>4	3:00	4:00	>4
2	3:10	3:15	3:30	3:00	3:00	ND
3	ND	3:15	3:30	3:00	3:00	ND
4	3:00	3:30	ND	3:00	3:20	ND
5	3:00	3:15	ND	3:00	3:20	ND
6	>4	>4	>4	>4	>4	>4
7	3:20	3:30	>4	3:15	3:30	3:30
8	3:20	3:45	4:00	3:15	3:30	3:45
9	3:00	4:00	>4	4:15	4:30	>5
10	3:00	3:20	3:45	3:00	3:15	3:15
11	3:00	3:20	3:45	3:00	3:15	3:15
12	3:45	4:00	>4	3:15	3:45	4:15
13	3:15	3:30	3:30	3:00	3:15	3:30
14	3:15	3:30	3:45	3:00	3:15	3:30
15	3:45	3:30	3:45	3:15	3:30	3:30
16	3:15	4:15	4:30	3:30	3:45	3:45
17	3:15	3:15	3:30	3:30	4:00	4:00
18	3:15	3:45	3:45	3:15	3:15	3:45

* เลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง 72 ชม.

** เลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งนาน 72 ชม. อุณหภูมิ $95 \pm 1^\circ \text{C}$. 30 นาที

*** ชั่วโมง

ตารางที่ 12 ความเร็วในการเจริญของ *B. stearothermophilus* var. *calidolactis* ที่เตรียมจาก
Agar media 18-20 ชั่วโมงในอาหารเลี้ยงเชื้อต่างๆ

	A1'			A1H''		
	0.4ml	0.2ml	0.1ml	0.4ml	0.2ml	0.1ml
อาหารเลี้ยงเชื้อ	4.8×10^{13}	2.2×10^{13}	1.1×10^{12}	1.4×10^8	7×10^7	3.5×10^7
1	2:00 ^{***}	2:45	3:15	2:45	3:00	3:45
2	2:00	2:15	2:30	2:45	3:00	3:15
3	2:15	2:15	2:15	2:45	3:00	3:15
4	2:00	2:45	3:45	3:00	3:00	3:15
5	2:00	2:15	2:30	2:45	3:15	3:15
6	>4	>4	>4	>4	>4	>4
7	3:00	3:15	3:30	2:45	3:00	3:45
8	3:15	3:30	3:30	3:00	3:30	3:45
9	3:15	3:45	4:00	3:15	3:30	3:30
10	2:45	3:00	3:15	2:45	2:45	3:00
11	3:00	3:00	3:15	2:45	3:15	3:30
12	3:00	3:15	3:30	3:00	3:30	3:30
13	2:00	2:00	2:00	2:45	3:00	3:00
14	2:00	2:00	2:30	2:45	3:00	3:15
15	2:15	2:15	2:15	2:45	3:00	3:00
16	2:15	2:30	2:30	2:45	3:30	>4
17	2:00	2:00	2:00	2:45	3:00	3:30
18	3:00	3:00	3:00	2:45	3:30	3:30

* เลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งนาน 18-20 ชม.

** เลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งนาน 18-20 ชม. รุ่นที่ $95^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ช. 30 นาที

*** ชั่วโมง

2. การทดสอบเพื่อเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเตรียมชุดตรวจ

ตารางที่ 13 แสดงความเข้มข้นของยาด้านจุลชีพแต่ละชนิดที่ตรวจพบโดยชุดตรวจที่เตรียมจาก *B. stearotherophilus* NIZO ขนาด 10^8 CFU/mL และอาหารเลี้ยงเชื้อต่าง ๆ 18 สูตร ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าชุดตรวจที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 4 (K1) และชุดตรวจที่เตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 9 (K2) สามารถตรวจพบยาด้านจุลชีพที่ผสมในน้ำนมได้ในระดับต่ำกว่าระดับที่ชุดตรวจซึ่งเตรียมจากอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอื่น ๆ ตรวจพบ ความเข้มข้นต่ำสุดของยา Ampicillin, Cloxacillin, Penicillin, Cephapirin, Streptomycin, Gentamicin, Kanamycin, Erythromycin, Oxytetracycline, Sulfamethazine และ Sulfathiazole ที่ตรวจพบโดยชุดตรวจ K1 เท่ากับ 1.25, 2.5, 1.25, 2.5, 30,000, 30, 1,875, 200, 30, 100,000, และ 12,500 ppb และ Chloramphenicol เข้มข้น 10,000 ppb ซึ่งเป็นความเข้มข้นสูงสุดที่ทดสอบให้ผลการทดสอบเป็นลบโดยชุดตรวจ K1

ความเข้มข้นต่ำสุดของยา Ampicillin, Cloxacillin, Penicillin, Cephapirin, Streptomycin, Gentamicin, Kanamycin, Oxytetracycline, และ Sulfathiazole ที่ตรวจพบโดยชุดตรวจ K2 เท่ากับ 2.5, 1.25, 1.25, 2.5, 3,750, 15, 1,875, 60 และ 12,500 ppb ตามลำดับ Erythromycin เข้มข้น 100 ppb เป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่ทดสอบกับชุดตรวจ K2 ให้ผลการทดสอบเป็นบวก Sulfamethazine เข้มข้น 200,000 ppb และ Chloramphenicol เข้มข้น 20,000 ppb ซึ่งเป็นความเข้มข้นสูงสุดที่ทดสอบให้ผลการทดสอบเป็นลบโดยชุดตรวจ K2

จากผลดังกล่าวเลือกชุดตรวจ K1 และ K2 เพื่อศึกษา Dose response curve ของชุดตรวจทั้งสองในการตรวจหายาด้านจุลชีพชนิดต่าง ๆ ในน้ำนมต่อไป

ตารางที่ 13 ความเข้มข้น (ppb) ของยาต้านจุลชีพ 12 ชนิดที่ตรวจพบโดยชุดตรวจซึ่งเตรียมจาก *B. stearotheophilus* เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งนาน 18-20 ชม. ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อจำนวน 18 สูตรและเวลาอ่านผล (ชม.)

ชุดตรวจ	เวลาอ่านผล	Antibiotics and Sulfonamides											
		AC	CX	PG	CEP	SM	GM	KM	EM	OTC	SMZ	STZ	CP
1	3:20	<2.5	2.5	5	5	60,000	120	<3,750	400	<60	>400,000	400,000	>10,000
2	4:00	<2.5	2.5	5	5	<15,000	30	<3750	<400	120	200,000	<25,000	>10,000
3	4:45	10	20	5	10	<15,000	<30	<3,750	<400	120	<25,000	<25,000	>10,000
4	3:20	1.25	2.5	1.25	2.5	30,000	30	1,875	200	30	100,000	12,500	>10,000
5	3:35	5	1.25	5	10	30,000	>240	3,750	200	120	>200,000	100,000	>20,000
7	3:35	20	20	>20	10	60,000	>240	3,750	800	120	>200,000	200,000	>20,000
8	3:15	20	10	>20	1.25	15,000	240	1,875	<100	60,000	>200,000	>200,000	>20,000
9	3:15	2.5	1.25	1.25	2.5	3,750	15	1,875	<100	60	>200,000	12,500	>20,000
10	3:45	1.25	10	40	1.25	30,000	240	7,500	<100	15	>200,000	>200,000	>20,000
11	4:05	2.5	10	5	5	30,000	60	1,875	<50	30	25,000	>200,000	>20,000
12	4:20	5	20	5	2.5	15,000	60	938	<50	30	>200,000	>200,000	>20,000
13	3:20	2.5	5	10	2.5	60,000	60	3,750	100	30	3,125	>200,000	>20,000
14	3:40	1.25	1.25	5	2.5	15,000	120	3,750	<50	60	>200,000	>20,000	>20,000
15	3:25	5	40	2.5	10	7,500	15	938	100	60	>200,000	>200,000	>20,000
16	3:20	5	>20	>20	>20	3,750	240	469	<50	30	>100,000	>200,000	>10,000
17	3:20	1.25	20	>20	2.5	60,000	120	3,750	<50	30	>100,000	>200,000	>10,000
18	4:00	>20	>20	>20	>20	30,000	>240	7,500	<50	>240	>100,000	>200,000	>10,000

3. ความสามารถ (Capability) ของชุดตรวจ K1 และ K2 ในการตรวจหา ยาต้านจุลชีพชนิดต่าง ๆ ในน้ำนม

3.1 Dose response curve ของชุดตรวจ K1 และ K2 ต่อยาต้านจุลชีพ

แต่ละชนิดที่ความเข้มข้นต่าง

เปอร์เซ็นต์ผลบวกของการทดสอบหาต่อต้านจุลชีพแต่ละชนิดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยชุดตรวจ K1 และ K2 (ชุดตรวจ K1 ทดสอบ 5 ครั้ง, ชุดตรวจ K2 ทดสอบ 6 ครั้ง) แสดงในภาพที่ 10-21 และตารางที่ 14

จากการทดลองชุดตรวจทั้งสองไม่สามารถตรวจพบ Chloramphenicol ความเข้มข้น 1,250 ppb-40,000 ppb ได้ (ตารางที่ 9) ความไวของชุดตรวจ K1 และ K2 ต่อ Sulfamethazine และ Sulfathiazole ที่ 400,000 ppb (ความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ทดสอบ) เท่ากับ 50, 50 และ 50, 33 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ภาพที่ 20 และ 21) ความเข้มข้นของยา Ampicillin, Cloxacillin, Penicillin, Cephapirin, Streptomycin, Gentamicin, Kanamycin, Erythromycin และ Oxytetracycline ที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์โดยชุดตรวจ K2 เท่ากับ 40, 20, 5, 40, 6,000, 960, 15,000, 1,600 และ 120 ppb

ความเข้มข้นของยา Ampicillin, Cloxacillin, Penicillin, Cephapirin, Streptomycin, Gentamicin, Kanamycin, Erythromycin และ Oxytetracycline ที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์โดยชุดตรวจ K2 เท่ากับ 40, 20, 5, 40, 1,500, 480, 7,500, 400 และ 120 ppb ตามลำดับ

ความเข้มข้นต่ำสุดของยาในกลุ่ม β -Lactams (Ampicillin, Cloxacillin, Penicillin, Cephapirin) ที่ชุดตรวจทั้งสองตรวจพบได้ 100 เปอร์เซ็นต์มีค่าเท่ากัน

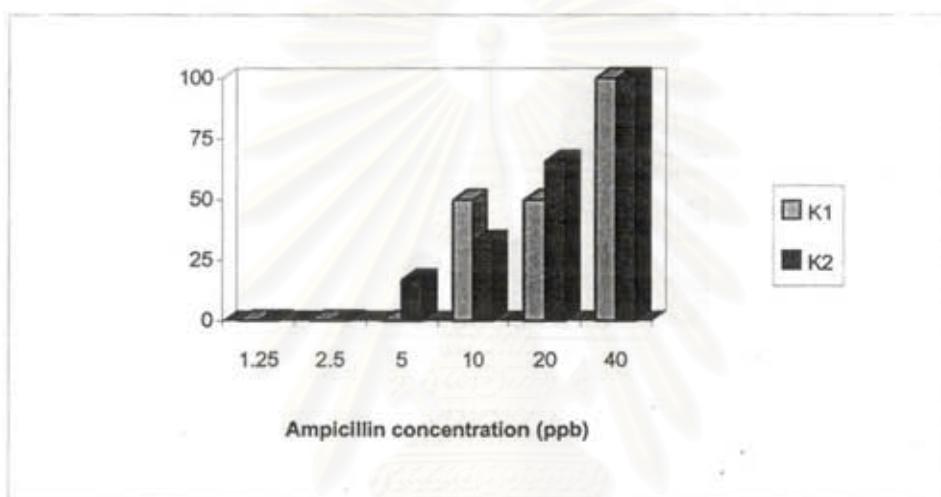
ความเข้มข้นต่ำสุดของ Streptomycin, Gentamicin, Kanamycin และ Erythromycin ที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์โดยชุดตรวจ K2 มีค่าต่ำกว่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาดังกล่าวที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์โดยชุดตรวจ K1

จากผลการทดลองดังกล่าวเลือกชุดตรวจ K2 สำหรับใช้ในการศึกษา Shelf-life ของชุดตรวจ และศึกษาความสามารถในการตรวจหาต่อต้านจุลชีพผสม 2-3 ชนิดในน้ำนม



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

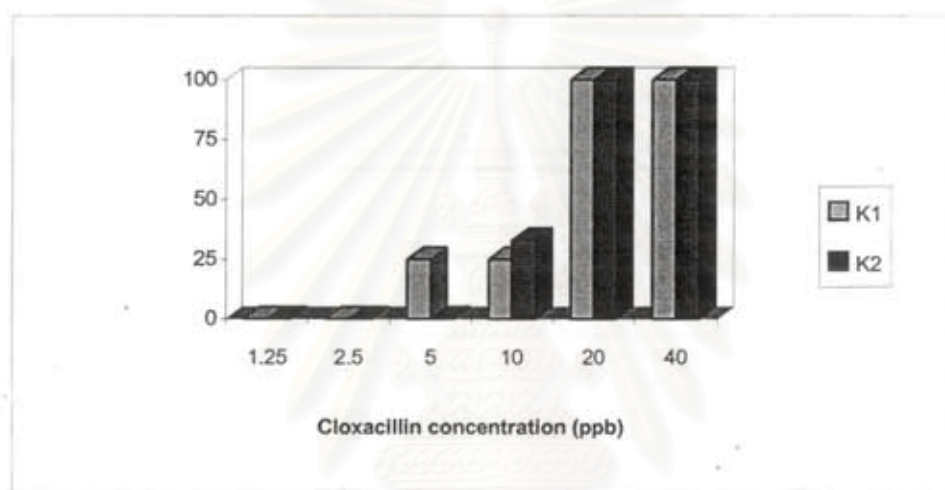
ชุดตรวจ	เปอร์เซ็นต์ผลบวก					
	Ampicillin concentration (ppb)					
	1.25	2.5	5	10	20	40
K1	0	0	0	50	50	100
K2	0	0	17	33	66	100



ภาพที่ 10 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ผลบวกของการตรวจหา Ampicillin ในน้ำนม ด้วยชุดตรวจ K1 และ K2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

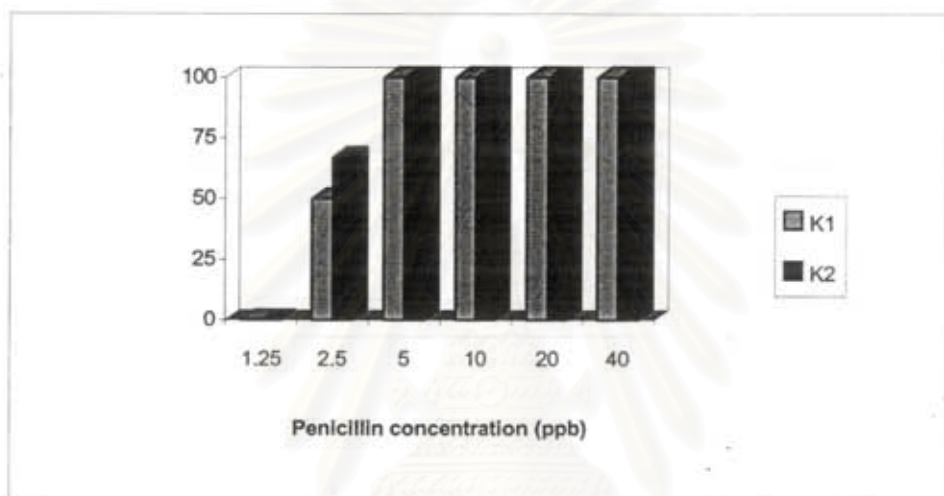
ชุดทดสอบ	เปอร์เซ็นต์ผลบวก					
	Cloxacillin concentration (ppb)					
	1.25	2.5	5	10	20	40
K1	0	0	25	25	100	100
K2	0	0	0	33	100	100



ภาพที่ 11 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ผลบวกของการตรวจหา Cloxacillin ในน้ำนม ด้วยชุดตรวจ K1 และ K2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

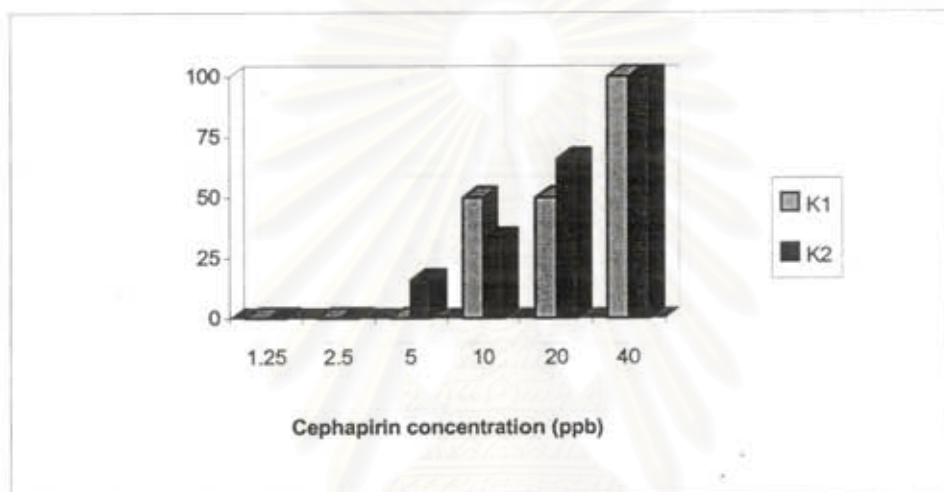
ชุดตรวจ	เปอร์เซ็นต์ผลบวก					
	Penicillin G concentration (ppb)					
	1.25	2.5	5	10	20	40
K1	0	50	100	100	100	100
K2	0	67	100	100	100	100



ภาพที่ 12 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ผลบวกของการตรวจหา Penicillin G ในน้ำนม ด้วยชุดตรวจ K1 และ K2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

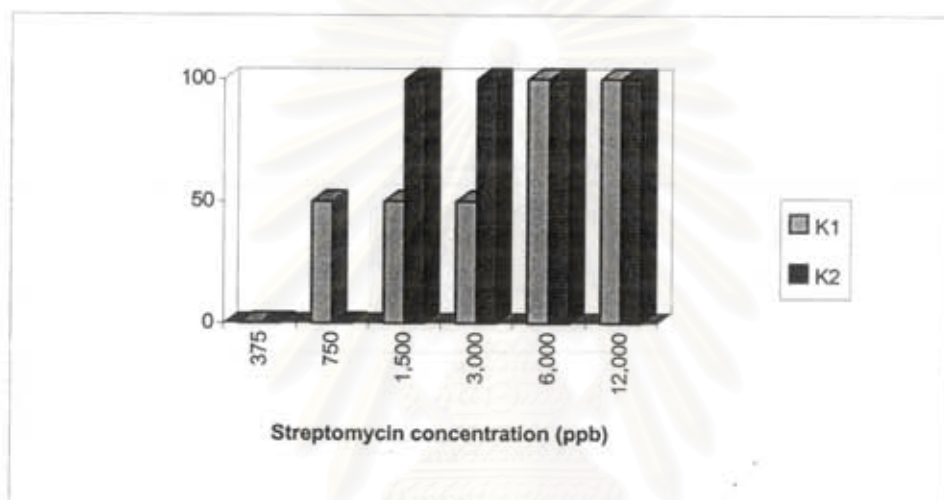
ชุดตรวจ	เปอร์เซ็นต์ผลบวก					
	Cephapirin concentration (ppb)					
	1.25	2.5	5	10	20	40
K1	0	0	0	50	50	100
K2	0	0	16	33	66	100



ภาพที่ 13 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ผลบวกของการตรวจหา Cephapirin ในน้ำนม
ด้วยชุดตรวจ K1 และ K2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

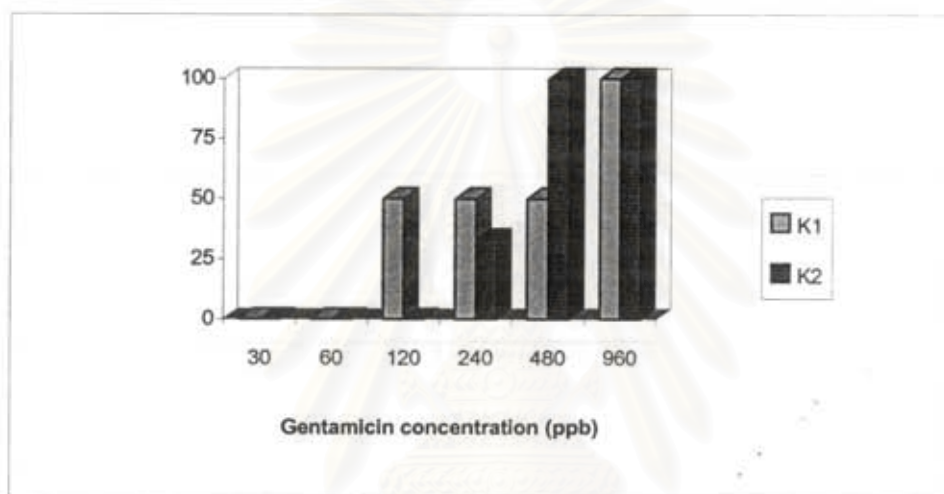
ชุดตรวจ	เปอร์เซ็นต์ผลบวก					
	Streptomycin concentration (ppb)					
	375	750	1,500	3,000	6,000	12,000
K1	0	50	50	50	100	100
K2	0	0	100	100	100	100



ภาพที่ 14 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ผลบวกของการตรวจหา Streptomycin ในน้ำนม ด้วยชุดตรวจ K1 และ K2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

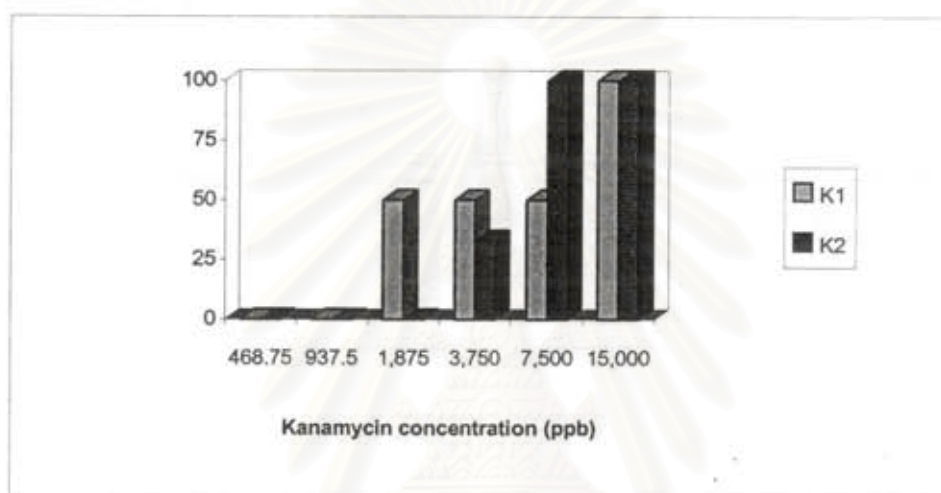
ชุดตรวจ	เปอร์เซ็นต์ผลบวก					
	Gentamicin concentration (ppb)					
	30	60	120	240	480	960
K1	0	0	50	50	50	100
K2	0	0	0	33	100	100



ภาพที่ 15 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ผลบวกของการตรวจหา Gentamicin ในน้ำนม
ด้วยชุดตรวจ K1 และ K2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

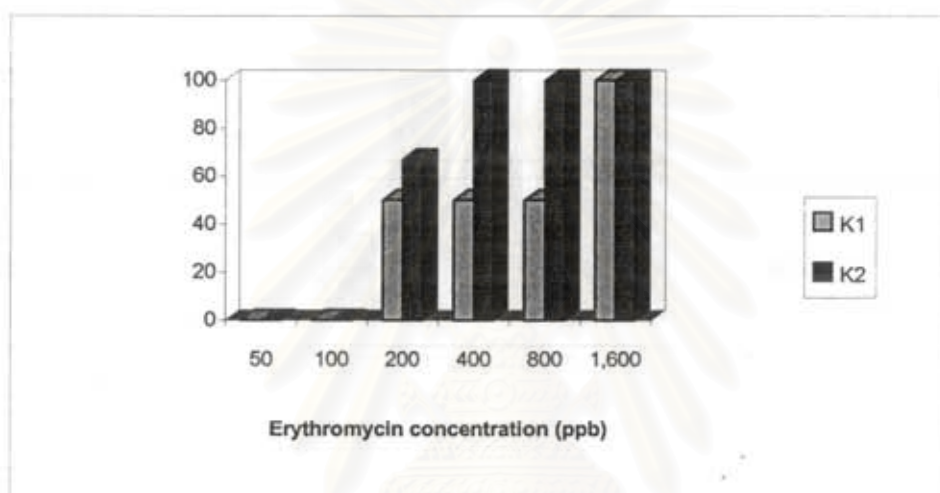
ชุดตรวจ	เปอร์เซ็นต์ผลบวก					
	Kanamycin concentration (ppb)					
	468.75	937.5	1,875	3,750	7,500	15,000
K1	0	0	50	50	50	100
K2	0	0	0	33	100	100



ภาพที่ 16 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ผลบวกของการตรวจหา Kanamycin ในน้ำนม ด้วยชุดตรวจ K1 และ K2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

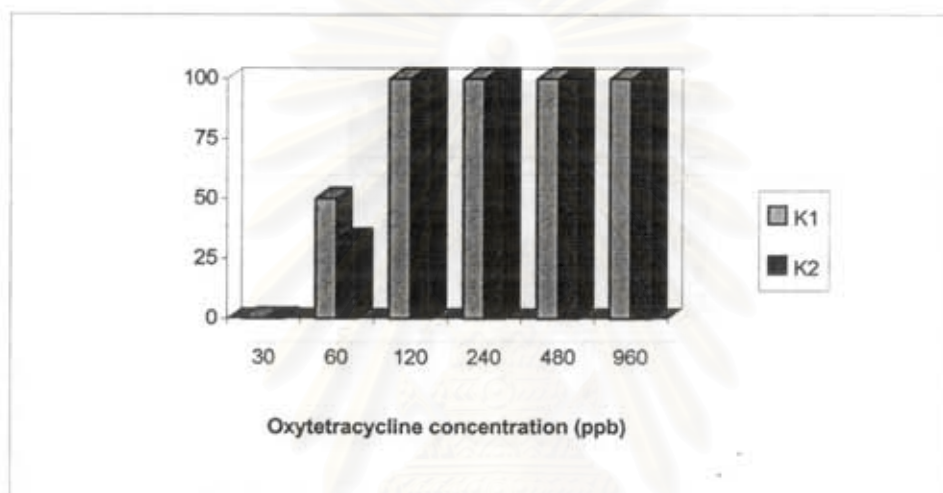
ชุดตรวจ	เปอร์เซ็นต์ผลบวก					
	Erythromycin concentration (ppb)					
	50	100	200	400	800	1,600
K1	0	0	50	50	50	100
K2	0	0	67	100	100	100



ภาพที่ 17 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ผลบวกของการตรวจหา Erythromycin ในน้ำนม ด้วยชุดตรวจ K1 และ K2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

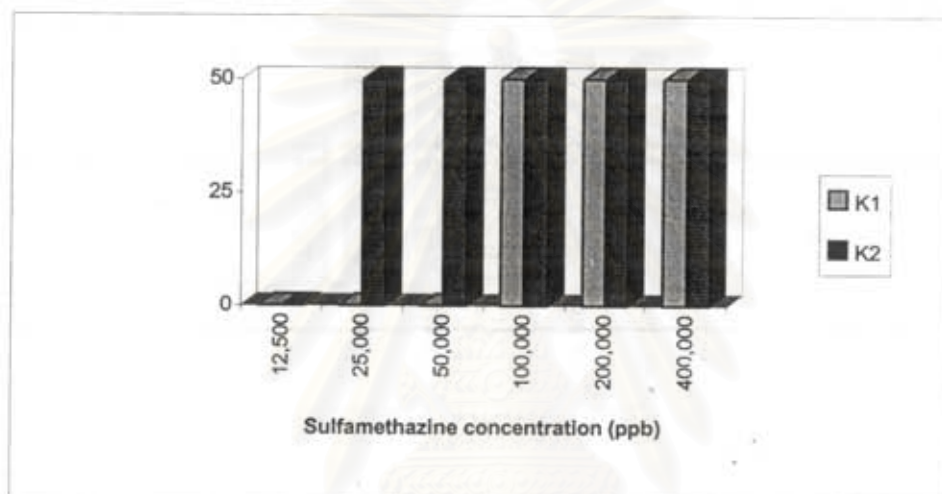
ชุดตรวจ	เปอร์เซ็นต์ผลบวก					
	Oxytetracycline concentration (ppb)					
	30	60	120	240	480	960
K1	0	50	100	100	100	100
K2	0	33	100	100	100	100



ภาพที่ 18 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ผลบวกของการตรวจหา Oxytetracycline ในน้ำนม
ด้วยชุดตรวจ K1 และ K2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

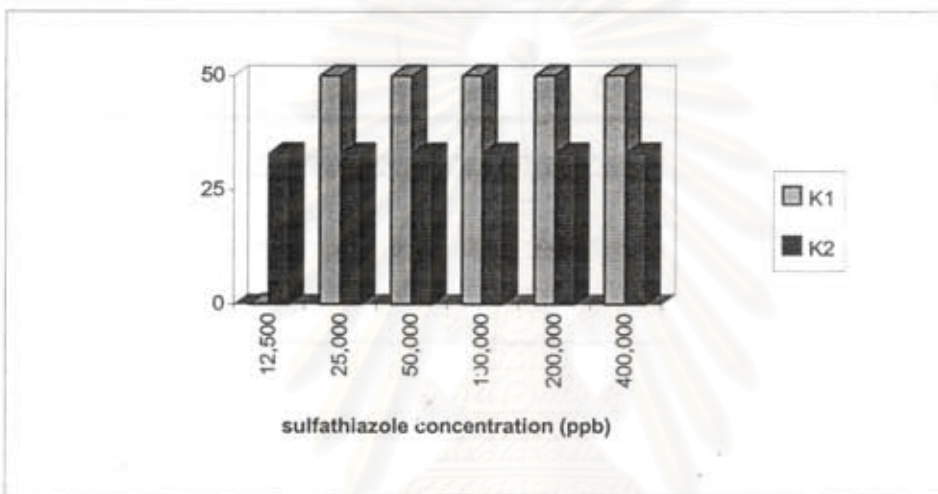
ชุดตรวจ	เปอร์เซ็นต์ผลบวก					
	Sulfamethazine concentration (ppb)					
	12,500	25,000	50,000	100,000	200,000	400,000
K1	0	0	0	50	50	50
K2	0	50	50	50	50	50



ภาพที่ 19 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ผลบวกของการตรวจหา Sulfamethazine ในน้ำนม ด้วยชุดตรวจ K1 และ K2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชุดตรวจ	เปอร์เซ็นต์ผลบวก					
	Sulfathiazole concentration (ppb)					
	12,500	25,000	50,000	100,000	200,000	400,000
K1	0	50	50	50	50	50
K2	33	33	33	33	33	33



ภาพที่ 20 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ผลบวกของการตรวจหา Sulfathiazole ในน้ำนม ด้วยชุดตรวจ K1 และ K2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 14 เปอร์เซ็นต์ผลบวกของการตรวจหา Chloramphenicol ในน้ำนม
ด้วยชุดตรวจ K1 และ K2

ชุดตรวจ	เปอร์เซ็นต์ผลบวก					
	Chloramphenicol concentration (ppb)					
	1,250	2,500	5,000	10,000	20,000	40,000
K1	0	0	0	0	0	0
K2	0	0	0	0	0	0

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 ความสามารถของชุดตรวจ K2 ในการตรวจหายาผสมชนิดต่าง ๆ

ผลการทดสอบความสามารถของชุดตรวจ K2 ในการตรวจหายาผสมชนิดต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 15

จากตารางแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ถูกรวบรวม 100 เปอร์เซ็นต์ของยาปฏิชีวนะและซัลฟาในยาผสมชนิดต่าง ๆ ไม่แตกต่างกับระดับความเข้มข้นต่ำสุดของยาปฏิชีวนะและซัลฟาแต่ละชนิดที่ถูกรวบรวม 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อตรวจสอบโดยชุดตรวจ K2 (\pm ไม่เกิน 4 เท่า) ยกเว้น Sulfamethazine และ Sulfathiazole เมื่อทดสอบยาทั้งสองชนิดนี้ในรูปยาเดี่ยวช่วงความเข้มข้น 6,250-400,000 ppb พบว่า ที่ความเข้มข้น 400,000 ppb ตรวจพบ SMZ 50 เปอร์เซ็นต์ และ STZ 33 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เมื่อใช้ SMZ ผสมกับ OTC สามารถพบ SMZ 100 เปอร์เซ็นต์ที่ 100,000 ppb และเมื่อใช้ STZ ผสม SMZ กับ KM (ความเข้มข้นตั้งต้น 200,000 ppb, 200,000 ppb และ 7,500 ppb ตามลำดับ) ตรวจพบ SMZ และ STZ 100 เปอร์เซ็นต์ที่ความเข้มข้น 50,000 ppb อย่างไรก็ตามเมื่อใช้ STZ ผสมกับ GM พบว่า ที่ความเข้มข้นสูงสุดที่ทดสอบ (STZ 200,000 ppb ผสมกับ GM 480 ppb) สามารถตรวจพบได้เพียง 50 เปอร์เซ็นต์

การใช้ Oxytetracycline ในยาผสม 2 และ 3 ชนิดพบว่า ระดับความเข้มข้นที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์ของ OTC ในยาผสม มีค่าเท่ากับความเข้มข้นที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์ขณะใช้เป็นยาเดี่ยว (120 ppb) ยกเว้นเมื่อใช้ OTC ผสม CX, OTC ผสม SMZ, และ OTC ผสม CX กับ SM ตรวจพบ OTC 100 เปอร์เซ็นต์ที่ 240 ppb สูงขึ้นจากยาเดี่ยว 1 ระดับความเข้มข้น (2-fold serial dilution)

Erythromycin เมื่อใช้เป็นยาเดี่ยวตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์ที่ 400 ppb เท่ากับเมื่อนำ EM ผสมกับ SM, เมื่อผสม EM กับ PG และ KM, เมื่อผสม OTC กับ CX, และเมื่อผสม PG กับ CX พบ EM 100 เปอร์เซ็นต์ที่ 100 ppb

Kanamycin เมื่อใช้เป็นยาเดี่ยวตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์ที่ 7,500 ppb, เมื่อผสม KM กับ CEP, เมื่อผสม KM กับ AC และ CX พบ KM 100 เปอร์เซ็นต์ที่ 3,750 ppb, KM ผสมด้วย PG กับ SM, และ KM ผสมด้วย PG กับ EM พบ KM 100 เปอร์เซ็นต์ที่ 1,875 ppb

Gentamicin เมื่อใช้เป็นยาเดี่ยวตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์ที่ความเข้มข้น 480 ppb, GM ผสม STZ ความเข้มข้นสูงสุดที่ทดสอบ (480+200,000 ppb) ตรวจพบ 50 เปอร์เซ็นต์, GM เมื่อผสมด้วย CEP และ SM พบ GM ในยาผสม 100 เปอร์เซ็นต์ที่ความเข้มข้น 120 ppb

ความเข้มข้นของ Streptomycin ที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์เมื่อใช้ในยาผสม 3 ชนิด เท่ากับความเข้มข้นของ SM เมื่อใช้เป็นยาเดี่ยว (1,500 ppb) ยกเว้นเมื่อใช้ SM ผสมกับ CX และ OTC พบ SM 100 เปอร์เซ็นต์ที่ 3,000 ppb, เมื่อใช้ในยาผสม 2 ชนิดคือ SM ผสม PG, และเมื่อผสม SM กับ CX พบ SM 100 เปอร์เซ็นต์ที่ 6,000 ppb

Cephapirin เมื่อใช้เป็นยาเดี่ยวตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์ที่ 40 ppb, เมื่อผสม CEP กับ SM และ GM พบ CEP 100 เปอร์เซ็นต์ที่ 5 ppb, และเมื่อผสม CEP กับ KM พบ CEP 100 เปอร์เซ็นต์ที่ 10 ppb

Cloxacillin ผสม SM, CX ผสม AC และเมื่อใช้เป็นยาเดี่ยวพบ 100 เปอร์เซ็นต์ที่ 20 ppb, เมื่อผสม CX กับ OTC, เมื่อผสม CX กับ SM และ OTC,

เมื่อผสม CX กับ AC และ KM พบ CX 100 เปอร์เซ็นต์ที่ 10 ppb, CX ผสม EM และ OTC, CX ผสม EM และ PG พบ CX 100 เปอร์เซ็นต์ที่ 5 ppb

ความเข้มข้นของ Penicillin ที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์เมื่อใช้เป็นยาผสม 2 หรือ 3 ชนิด ไม่เปลี่ยนแปลงจากความเข้มข้นที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้เป็นยาเดี่ยว (5 ppb) ยกเว้นเมื่อใช้ PG ผสมกับ SM พบ P 100 เปอร์เซ็นต์ที่ 20 ppb

Ampicillin เมื่อใช้เป็นยาเดี่ยวพบ 100 เปอร์เซ็นต์ที่ 40 ppb, AC เมื่อผสมกับ CX พบ AC 100 เปอร์เซ็นต์ที่ 20 ppb, และเมื่อผสม AC กับ CX และ KM พบ AC 100 เปอร์เซ็นต์ที่ 10 ppb



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 15 ความเข้มข้นของยาต้านจุลชีพในรูปยาผสมที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์โดยชุดตรวจ K2
เปรียบเทียบกับความเข้มข้นของยาต้านจุลชีพแต่ละชนิดที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์
โดยชุดตรวจ K2

	ความเข้มข้นต่ำสุด ที่ตรวจพบ 100% ^a	ยาต้านจุลชีพ	ความเข้มข้นต่ำสุด ที่ตรวจพบ 100% ^a
PG+SM	20+6,000	AC	40
CX+SM	20+6,000	CX	20
CX+OTC	10+240	PG	50
STZ+GM	.	CEP	40
KM+CEP	3,750+10	SM	1,500
SMZ+OTC	100,000+240	GM	480
PG+OTC	5+120	KM	7,500
EM+SM	400+3,000	EM	400
AC+CX	20+20	OTC	120
PG+SM+OTC	5+1,500+120	SMZ	>400,000
STZ+SMZ+KM	50,000+50,000+1,875	STZ	>400,000
PG+SM+KM	5+1,500+1,875	CP	>400,000
PG+KM+EM	5+1,875+100		
CX+SM+OTC	10+3,000+240		
EM+OTC+CX	100+120+5		
CEP+SM+GM	5+1,500+120		
EM+PG+CX	100+5+5		
AC+CX+KM	10+10+3,750		

* ช่วงความเข้มข้นสูงสุดที่ทดสอบตรวจพบ 50 เปอร์เซ็นต์

^a ppb

4. การเพิ่มความสามารถในการตรวจหา Sulfonamides ของชุดตรวจ

ตรวจหา Sulfamethazine และ Sulfathiazole ความเข้มข้น 125-4,000 ppb โดยชุดตรวจ K2 ที่เติม Trimethopim 0.05 และ 0.1 $\mu\text{g/ml}$ ความไวของชุดตรวจดังกล่าวในการตรวจหาซัลฟาทั้งสองชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆแสดงในตารางที่ 16-17

ความเข้มข้นของ SMZ ที่ถูกตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์โดยชุดตรวจ K2 ที่เติม Trimethopim 0.05 และ 0.1 $\mu\text{g/ml}$ เท่ากับ 500 และ 200 ppb

ความเข้มข้นของ STZ ที่ถูกตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์โดยชุดตรวจ K2 ที่เติม Trimethopim 0.05 และ 0.1 $\mu\text{g/ml}$ เท่ากับ 250 ppb

จากตารางชุดตรวจ K2 ที่ไม่เติม TMP ไม่สามารถตรวจพบ SMZ และ STZ ช่วงความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบได้

ตารางที่ 16 เปอร์เซ็นต์ผลบวกของการตรวจหา Sulfamethazine โดยชุดตรวจ K2

และชุดตรวจ K2 ที่เติม Trimethoprim 0.05 และ 0.1 $\mu\text{g/ml}$

ชุดตรวจ	เปอร์เซ็นต์ผลบวก*							
	Sulfamethazine concentration (ppb)							
	31.25	62.5	125	250	500	1,000	2,000	4,000
K2+0.05**	17	33	66	83	100	100	100	100
K2+0.1***	33	50	83	100	100	100	100	100
K2	0	0	0	0	0	0	0	0

* จากการทดสอบ 6 ครั้ง

** K2+Trimethoprim 0.05 $\mu\text{g/ml}$

*** K2+Trimethoprim 0.1 $\mu\text{g/ml}$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 17 เปอร์เซ็นต์ผลบวกของการตรวจหา Sulfathiazole โดยชุดตรวจ K2

และชุดตรวจ K2 ที่เติม Trimethoprim 0.05 และ 0.1 $\mu\text{g/ml}$

ชุดตรวจ	เปอร์เซ็นต์ผลบวก*							
	Sulfathiazole concentration (ppb)							
	31.25	62.5	125	250	500	1,000	2,000	4,000
K2+0.05**	16	50	50	100	100	100	100	100
K2+0.1***	25	50	91	100	100	100	100	100
K2	0	0	0	0	0	0	0	0

* จากการทดสอบ 6 ครั้ง

** K2+Trimethoprim 0.05 $\mu\text{g/ml}$

*** K2+Trimethoprim 0.1 $\mu\text{g/ml}$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. การหา Shelf-life ของชุดตรวจ

ผลการตรวจหายาด้านจุลชีพ 10 ชนิดในน้ำนมโดยชุดตรวจ K2L1, K2L2 และ K2L3 ในช่วงเวลา 0-4 เดือน (ตรวจครั้งแรกเมื่อเตรียมชุดตรวจยาตกค้างและต่อมาทุกเดือนเป็นเวลา 4 เดือน) พบว่า ความเข้มข้นของยาด้านจุลชีพแต่ละชนิดที่ตรวจพบโดยชุดตรวจแต่ละชุดเมื่อเก็บชุดตรวจไว้ที่อุณหภูมิ 7° ซ. เป็นเวลาต่างๆ แตกต่างกัน 0-3 ระดับความเข้มข้น (ระดับความเข้มข้นเตรียมเป็น 2-fold serial dilution) จากความเข้มข้นที่ตรวจพบครั้งแรกเมื่อเตรียมชุดตรวจ ความเข้มข้นของยาแต่ละชนิดที่ถูกตรวจพบโดยชุดตรวจแต่ละชุดในช่วงเวลา 1-4 เดือนหลังจากเตรียมชุดตรวจนั้น ๆ มีทั้งเพิ่มขึ้นและลดลงโดยไม่ขึ้นกับชนิดของยาและ Lot ของชุดตรวจ อย่างไรก็ตาม Detectable concentrations ที่เปลี่ยนแปลงนี้มีค่าไม่เกินความเข้มข้นต่ำสุดของยาดังกล่าวที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยชุดตรวจ K2

ในการทดลองครั้งนี้ไม่สามารถตรวจหา Chloramphenicol ความเข้มข้น 1,250-40,000 ppb ได้

จากการทดลองเวลาอ่านผลของชุดตรวจแต่ละชุดเมื่อเก็บไว้นาน 1-4 เดือน เปลี่ยนแปลงไปจากระยะเวลาอ่านผลเมื่อทดสอบครั้งแรกหลังเตรียมชุดตรวจเสร็จไม่เกิน 30 นาที

ตารางที่ 18 ความเข้มข้นของยาต้านจุลชีพที่ถูกต้องพบโดยชุดตรวจ K2L1, K2L2 และ K2L3 เมื่อเก็บชุดตรวจไว้นาน 0-4 เดือน

ยาต้านจุลชีพ	Detection limit	Detectable concentration (ppb)														
		แรกเตรียม			1 เดือน			2 เดือน			3 เดือน			4 เดือน		
		K2L1	K2L2	K2L3	K2L1	K2L2	K2L3	K2L1	K2L2	K2L3	K2L1	K2L2	K2L3	K2L1	K2L2	K2L3
AC	40	10	10	2.5	40	20	40	20	2.5	5	40	2.5	10	5	5	10
CX	20	10	20	5	20	20	20	20	5	20	10	5	20	20	5	5
PG	5	2.5	2.5	2.5	5	5	5	2.5	2.5	5	5	2.5	5	2.5	2.5	2.5
CEP	40	2.5	2.5	2.5	5	2.5	10	2.5	2.5	5	10	2.5	2.5	5	2.5	5
SM	1,500	1,500	375	750	1,500	1,500	1,500	1,500	750	1,500	1,500	1,500	1,500	1,500	1,500	1,500
GM	480	480	120	240	120	120	60	480	60	480	60	120	480	120	60	480
KM	7,500	7,500	938	938	7,500	938	3,750	1,875	938	3,750	3,750	938	1,875	1,875	938	3,750
EM	400	400	200	100	400	200	400	400	200	200	200	200	200	400	200	200
OTC	120	60	120	120	120	60	60	60	60	60	60	60	120	60	60	120
เวลาอ่านผล		3:30	3:15	3:15	3:25	3:15	3:10	3:00	3:15	3:30	3:00	3:00	3:30	3:00	3:15	3:15

**6. การเปรียบเทียบความสามารถของชุดตรวจ K2 กับวิธีการตรวจยาคก้างอื่น ๆ
ในการตรวจหาขนาดานจุลชีพในน้ำนม**

ทดสอบน้ำนมผสมยาดานจุลชีพชนิดต่างๆที่มีความเข้มข้นตามตารางที่ 8
ด้วยชุดตรวจ ADM[®], Charm AIM 96[®], Charm Farm[®], Charm II Test[®], Delvotest-
P[®] และ Disk assay plate method

ความเข้มข้นต่ำสุดของ Ampicillin ในน้ำนมที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์
โดยชุดตรวจ K2, ADM, Delvotest-P, AIM 96, Charm Farm, Charm II และการตรวจ
วิธี Disk assay เท่ากับ 40, 40, 20, 5, 5, 10 และ 20 ppb (ตารางที่ 19)

ความเข้มข้นต่ำสุดของ Cloxacillin ในน้ำนมที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์โดย
ชุดตรวจ K2, ADM, Delvotest-P, AIM 96, Charm Farm และ Charm II เท่ากับ 20
40, 40, 80, 160 และ 80 ppb การตรวจหาขนาดานจุลชีพด้วยวิธี Disk assay พบว่า
Cloxacillin เข้มข้น 40 ppb ซึ่งเป็นความเข้มข้นสูงสุดที่ทดสอบ วิธีดังกล่าวตรวจพบ 67
เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 20)

ความเข้มข้นต่ำสุดของ Penicillin ในน้ำนมที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์โดย
ชุดตรวจ K2, ADM, Delvotest-P, AIM 96, Charm farm, Charm II และการตรวจวิธี
Disk assay เท่ากับ 5, 20, 20, 2.5, 5, 5 และ 20 ppb (ตารางที่ 21)

ความเข้มข้นต่ำสุดของ Cephapirin ในน้ำนมที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์โดย
ชุดตรวจ K2, ADM, Delvotest-P, AIM 96, Charm Farm, Charm II และการตรวจวิธี
Disk assay เท่ากับ 40, 20, 20, 20, 10, 2.5 และ 10 ppb (ตารางที่ 22)

ความเข้มข้นต่ำสุดของ Streptomycin ในน้ำนมที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์โดย
ชุดตรวจ K2, ADM, Delvotest-P, AIM 96, Charm Farm, Charm II และการตรวจวิธี
Disk assay เท่ากับ 1,500, 12,000, 6,000, 3,000, 3,000, 18.75 และ 3,000 ppb
(ตารางที่ 23)

ความเข้มข้นต่ำสุดของ Gentamicin ในน้ำนมที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์โดย
ชุดตรวจ K2, AIM 96, Charm Farm, Charm II และการตรวจวิธี Disk assay เท่ากับ
480, 240, 240, 120 และ 960 ppb การตรวจหา Gentamicin ในน้ำนมด้วยชุดตรวจ
ADM และ Delvotest-P พบว่า ความเข้มข้นของยาที่ให้เปอร์เซ็นต์การตรวจพบสูงสุด
และเปอร์เซ็นต์การตรวจพบสูงสุดเท่ากับ 240 ppb และ 43เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 24)

ความเข้มข้นต่ำสุดของ Kanamycin ในน้ำนมที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์โดย
ชุดตรวจ K2, ADM, Delvotest-P, AIM 96, Charm Farm, Charm II และการตรวจวิธี
Disk assay เท่ากับ 7,500, 7,500, 15,000, 937.5, 1,875, 480 และ 1,875 ppb
(ตารางที่ 25)

ความเข้มข้นต่ำสุดของ Erythromycin ในน้ำนมที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์โดย
ชุดตรวจ K2, ADM, Delvotest-P, AIM 96, Charm Farm, Charm II และการตรวจวิธี
Disk assay เท่ากับ 400, 400, 800, 400, 200, 100 และ 200 ppb (ตารางที่ 26)

ความเข้มข้นต่ำสุดของ Oxytetracycline ในน้ำนมที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยชุดตรวจ K2, ADM, Delvotest-P, AIM 96, Charm Farm, Charm II และการตรวจวิธี Disk assay เท่ากับ 120, 120, 120, 480, 480, 7.5 และ 240 ppb (ตารางที่ 27)

ความเข้มข้นต่ำสุดของ Sulfamethazine ในน้ำนมที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยชุดตรวจ Delvotest-P, AIM 96, Charm Farm, Charm II และการตรวจวิธี Disk assay เท่ากับ 100,000, 10, 10, 2.5 ppb และ 100,000 ppb การตรวจหา Sulfamethazine ช่วงความเข้มข้น 12,500-400,000 ppb ด้วยชุดตรวจ K2 พบว่าตรวจพบยาดังกล่าว 50 เปอร์เซ็นต์ทุกความเข้มข้น การตรวจหา Sulfamethazine ความเข้มข้น 6,250-200,000 ppb ด้วยชุดตรวจ ADM และความเข้มข้น 2.5-10 ppb ด้วยชุดตรวจ Charm II พบว่า ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ทดสอบคือ 6,250 และ 2.5 ppb ชุดตรวจทั้งสองสามารถตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 28)

ความเข้มข้นต่ำสุดของ Sulfathiazole ในน้ำนมที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์โดยชุดตรวจ Delvotest-P, AIM 96, Charm farm และ Charm II เท่ากับ 100,000, 5, 10, และ 5 ppb ตามลำดับ การตรวจหา Sulfathiazole ช่วงความเข้มข้น 12,500-400,000 ppb พบว่าชุดตรวจ K2 ตรวจพบยาดังกล่าว 33 เปอร์เซ็นต์ทุกความเข้มข้น และที่ความเข้มข้น 12,500 ppb ซึ่งเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่ทดสอบ ชุดตรวจ ADM และการตรวจด้วยวิธี Disk assay ตรวจพบยาดังกล่าว 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 29)

ความเข้มข้นต่ำสุดของ Chloramphenicol ในน้ำนมที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยชุดตรวจ AIM 96, Charm farm, Charm II และการตรวจวิธี Disk assay เท่ากับ 5,000, 2,500, 240, และ 4,000 ppb จากการทดลองชุดตรวจ K2 ไม่สามารถตรวจพบ

Chloramphenicol ช่วงความเข้มข้น 625-4,000 ppb ได้ และเมื่อตรวจหาดังกล่าวด้วยชุดตรวจ ADM และ Delvotest-P พบว่าชุดตรวจ ADM มีเปอร์เซ็นต์การตรวจพบสูงสุดเท่ากับ 17 เปอร์เซ็นต์ที่ Chloramphenicol เข้มข้น 100,000 ppb และชุดตรวจ Delvotest-P ตรวจพบยาดังกล่าว 17 เปอร์เซ็นต์ทุกลำดับความเข้มข้น

เมื่อเปรียบเทียบ Detection limit ของชุดตรวจ K2 ในการตรวจหาด้านจุลชีพกลุ่มต่างๆในน้ำนมกับชุดตรวจ ADM[®] และ Delvotest-P[®] ซึ่งเป็นชุดตรวจทางการค้าที่พัฒนามาจากวิธี Tube diffusion เช่นเดียวกันพบว่า Detection limit ของการตรวจทั้ง 3 วิธีต่อยากลุ่ม β -lactams, Aminoglycosides และยา Erythromycin และ Oxytetracycline มีค่าใกล้เคียงกัน (\pm ไม่เกิน 2 two-fold serial dilution) ยกเว้น Detection limit ของชุดตรวจ K2 ต่อยา Streptomycin มีค่าเท่ากับ 1,500 ppb ต่ำกว่า Detection limit ของชุดตรวจ ADM[®] 3 dilutions (12,000 ppb) และ Detection limit ของชุดตรวจ K2 ในการตรวจหา Gentamicin เท่ากับ 480 ppb แต่ในการทดลองครั้งนี้ไม่สามารถหา Detection limit ของชุดตรวจ ADM[®] และ Delvotest-P[®] ได้

ในการทดลองครั้งนี้ Detection limit ของชุดตรวจ ADM และ Delvotest-P ในการตรวจหา GM ในน้ำนมมีค่ามากกว่า 480 ppb ซึ่งเป็นความเข้มข้นยาสูงสุดที่ทดสอบ เนื่องจากมีชุดทดสอบทั้งสองชนิดไม่เพียงพอ จึงไม่สามารถตรวจหาดังกล่าวในระดับความเข้มข้นที่สูงกว่านี้

ตารางที่ 19 เปอร์เซ็นต์ที่ให้ผลบวกของชุดตรวจ K2 และวิธีทดสอบอื่นอีก 6 วิธี
ในการตรวจหา Ampicillin ในน้ำนม

วิธีตรวจ	AM Concentration (ppb)					
	40	20	10	5	2.5	1.25
K2	100	67	33	17	0	0
ADM	100	86	86	43	29	14
Delvotest-P	ND*	100	57	29	14	14
<i>B. subtilis</i> MHA 6	100	86	50	0	0	ND
<i>B. subtilis</i> MHA 7	100	100	100	33	0	ND
<i>B. subtilis</i> MHA 8	100	100	100	100	50	ND
<i>B. subtilis</i> MM	100	50	0	0	0	ND
<i>B. stearothermophilus</i> AM	100	100	100	100	100	ND
AIM 96	ND	100	100	100	50	0
Charm Farm	ND	ND	100	100	50	ND
Charm II	ND	ND	100	50	0	ND

* Not done

K2, Disk assay, AIM 96, Charm Farm ทดสอบ 6 ครั้ง

ADM, Delvotest-P ทดสอบ 7 ครั้ง

Charm II ทดสอบ 4 ครั้ง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 20 เปอร์เซ็นต์ที่ให้ผลบวกของชุดตรวจ K2 และวิธีทดสอบอื่นอีก 6 วิธี
ในการตรวจหา Cloxacillin ในน้ำนม

วิธีตรวจ	CX Concentration (ppb)					
	40	20	10	5	2.5	1.25
K2	100	100	33	0	0	0
ADM	100	43	14	14	ND*	
Delvotest-P	100	71	14	14	ND	
CX (ppb)	160	80	40	20	10	5
<i>B. subtilis</i> MHA 6	100	50	0	0	0	0
<i>B. subtilis</i> MHA 7	0	0	0	0	0	0
<i>B. subtilis</i> MHA 8	100	0	0	0	0	0
<i>B. subtilis</i> MM	67	0	0	0	0	0
<i>B. stearothermophilus</i> AM	100	100	100	100	100	83
AIM 96	ND	100	67	50	0	ND
Charm Farm	100	83	67	17	0	ND
Charm II	ND	100	75	25	0	ND

* Not done

K2, Disk assay, AIM 96, Charm Farm ทดสอบ 6 ครั้ง

ADM, Delvotest-P ทดสอบ 7 ครั้ง

Charm II ทดสอบ 4 ครั้ง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 21 เปอร์เซ็นต์ที่ให้ผลบวกของชุดตรวจ K2 และวิธีทดสอบอื่นอีก 6 วิธี
ในการตรวจหา Penicillin G ในน้ำนม

วิธีตรวจ	PG Concentration (ppb)						
	40	20	10	5	2.5	1.25	0.625
K2	100	100	100	100	67	0	ND*
ADM	ND	100	71	71	29	ND	
Delvotest-P	ND	100	71	71	57	ND	
<i>B. subtilis</i> MHA 6	100	100	100	0	0	ND	
<i>B. subtilis</i> MHA 7	100	100	83	17	0	ND	
<i>B. subtilis</i> MHA 8	100	100	100	100	17	ND	
<i>B. subtilis</i> MM	100	100	100	17	0	ND	
<i>B. stearothermophilus</i> AM	100	100	100	100	100	ND	
AIM-96	100	100	100	100	100	33	ND
Charm Farm	ND	100	100	100	67	33	ND
Charm II	ND			100	25	ND	

* Not done

K2, Disk assay, AIM 96, Charm Farm ทดสอบ 6 ครั้ง

ADM, Delvotest-P ทดสอบ 7 ครั้ง

Charm II ทดสอบ 4 ครั้ง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 22 เปอร์เซ็นต์ที่ให้ผลบวกของชุดตรวจ K2 และวิธีทดสอบอื่นอีก 6 วิธี
ในการตรวจหา Cephapirin ในน้ำนม

วิธีตรวจ	CEP Concentration (ppb)					
	40	20	10	5	2.5	1.25
K2	100	67	33	17	0	0
ADM	100	100	86	57	29	14
Delvotest-P	ND*	100	86	57	14	14
<i>B. subtilis</i> MHA 6	100	100	83	17	0	ND
<i>B. subtilis</i> MHA 7	100	100	100	0	0	ND
<i>B. subtilis</i> MHA 8	100	100	83	17	0	ND
<i>B. subtilis</i> MM	100	100	83	0	0	ND
<i>B. stearothermophilus</i> AM	100	100	100	100	100	ND
AIM 96	100	100	50	17	17	ND
Charm Farm	100	100	100	17	0	0
Charm II	ND			100	100	ND

* Not done

K2, Disk assay, AIM 96, Charm Farm ทดสอบ 6 ครั้ง

ADM, Delvotest-P ทดสอบ 7 ครั้ง

Charm II ทดสอบ 4 ครั้ง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 23 เปอร์เซ็นต์ที่ให้ผลบวกของชุดตรวจ K2 และวิธีทดสอบอื่นอีก 6 วิธี
ในการตรวจหา Streptomycin ในน้ำนม

วิธีตรวจ	SM Concentration (ppb)						
	12000	6000	3000	1500	750	375	187
K2	100	100	100	100	0	0	ND
ADM	100	86	57	43	29	0	ND
Delvotest-P	100	100	71	14	ND		
<i>B. subtilis</i> MHA 6	ND	100	67	17	0	0	0
<i>B. subtilis</i> MHA 7	ND	100	100	100	100	83	50
<i>B. subtilis</i> MHA 8	ND	100	100	100	100	100	83
<i>B. subtilis</i> MM	ND	83	33	17	0	0	0
<i>B. stearothermophilus</i> AM	ND	100	100	100	17	0	0
SM (ppb)	6000	3000	1000	500	250	125	
AIM 96	100	100	83	50	50	0	
Charm Farm	100	100	67	67	0	ND	
SM (ppb)	37.5		18.75		9.375		
	100		100		25		

* Not done

K2, Disk assay, AIM 96, Charm Farm ทดสอบ 6 ครั้ง

ADM, Delvotest-P ทดสอบ 7 ครั้ง

Charm II ทดสอบ 4 ครั้ง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 24 เปอร์เซ็นต์ที่ให้ผลบวกของชุดตรวจ K2 และวิธีทดสอบอื่นอีก 6 วิธี
ในการตรวจหา Gentamicin ในน้ำนม

วิธีตรวจ	GM Concentration (ppb)						
	960	480	240	120	60	30	15
K2	100	100	33	0	0	0	ND*
ADM	ND	+	43	29	29	29	ND
Delvotest-P	ND	+	43	29	14	14	0
<i>B. subtilis</i> MHA 6	ND	100	50	0	0	0	0
<i>B. subtilis</i> MHA 7	ND	100	100	17	0	0	0
<i>B. subtilis</i> MHA 8	ND	100	100	100	17	0	0
<i>B. subtilis</i> MM	ND	17	0	0	0	0	0
<i>B. stearothermophilus</i> AM	ND	100	83	0	0	0	0
GM (ppb)	480	240	120	60	30	15	7.5
AIM 96	100	100	17	0	ND	ND	
Charm Farm	100	100	33	17	0	ND	
Charm II	ND	100	100	75	0	ND	

* Not done

K2, Disk assay, AIM 96, Charm Farm ทดสอบ 6 ครั้ง

ADM, Delvotest-P ทดสอบ 7 ครั้ง

Charm II ทดสอบ 4 ครั้ง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 25 เปอร์เซ็นต์ที่ให้ผลบวกของชุดตรวจ K2 และวิธีทดสอบอื่นอีก 6 วิธี
ในการตรวจหา Kanamycin ในน้ำนม

วิธีตรวจ	KM Concentration (ppb)						
	30000	15000	7500	3750	1875	938	469
K2	ND*	100	100	33	0	0	0
ADM	ND	100	100	71	14	0	ND
Delvotest-P	ND	100	86	71	29	0	ND
<i>B. subtilis</i> MHA 6	100	100	100	100	100	ND	
<i>B. subtilis</i> MHA 7	100	100	100	100	100	ND	
<i>B. subtilis</i> MHA 8	100	100	100	100	100	ND	
<i>B. subtilis</i> MM	100	100	100	100	83	ND	
<i>B. stearothermophilus</i> AM	100	83	83	83	67	ND	
AIM 96	100	100	100	100	100	100	0
Charm Farm	ND			100	100	0	0
KM (ppb)	960	480	240	120	60		
Charm II	100	100	0	0	0		

* Not done

K2, Disk assay, AIM 96, Charm Farm ทดสอบ 6 ครั้ง

ADM, Delvotest-P ทดสอบ 7 ครั้ง

Charm II ทดสอบ 3 ครั้ง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 26 เปอร์เซ็นต์ที่ให้ผลบวกของชุดตรวจ K2 และวิธีทดสอบอื่นอีก 6 วิธี
ในการตรวจหา Erythromycin ในน้ำนม

วิธีตรวจ	EM Concentration (ppb)					
	1600	800	400	200	100	50
K2	100	100	100	67	0	0
ADM	100	100	100	29	29	-
Delvotest-P	100	100	71	14	14	-
<i>B. subtilis</i> MHA 6	100	100	100	50	0	0
<i>B. subtilis</i> MHA 7	100	100	100	100	100	17
<i>B. subtilis</i> MHA 8	100	100	100	100	100	100
<i>B. subtilis</i> MM	100	100	100	83	50	0
<i>B. stearothermophilus</i> AM	100	100	100	100	0	0
AIM 96	100	100	100	67	0	0
Charm Farm	ND*	100	100	100	33	0
EM (ppb)	200	100	50	25	12.5	
Charm II	100	100	25	0	0	

* Not done

K2, Disk assay, AIM 96, Charm Farm ทดสอบ 6 ครั้ง

ADM, Delvotest-P ทดสอบ 7 ครั้ง

Charm II ทดสอบ 4 ครั้ง

ตารางที่ 27 เปอร์เซ็นต์ที่ให้ผลบวกของชุดตรวจ K2 และวิธีทดสอบอื่นอีก 6 วิธี
ในการตรวจหา Oxytetracycline ในน้ำนม

วิธีตรวจ	OTC concentration (ppb)					
	960	480	240	120	60	30
K2	100	100	100	100	33	0
ADM	ND*	100	100	100	57	43
Delvotest-P	ND	+	+	100	57	29
<i>B. subtilis</i> MHA 6	100	100	100	50	0	0
<i>B. subtilis</i> MHA 7	83	17	0	0	0	0
<i>B. subtilis</i> MHA 8	0	0	0	0	0	0
<i>B. subtilis</i> MM	100	100	100	83	17	0
<i>B. stearothermophilus</i> AM	100	100	83	83	83	83
AIM 96	ND	100	50	0	0	ND
Charm Farm	100	100	83	0	0	ND
OTC (ppb)	30	15	7.5	3.75		
Charm II	100	100	100	33		

* Not done

K2, Disk assay, AIM 96, Charm Farm ทดสอบ 6 ครั้ง

ADM, Delvotest-P ทดสอบ 7 ครั้ง

Charm II ทดสอบ 4 ครั้ง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 28 เปอร์เซ็นต์ที่ให้ผลบวกของชุดตรวจ K2 และวิธีทดสอบอื่นอีก 6 วิธี
ในการตรวจหา Sulfamethazine ในน้ำนม

วิธีตรวจ	SMZ Concentration (ppb)					
	400000	200000	100000	50000	25000	12500
K2	50	50	50	50	50	ND*
SMZ (ppb)						
ADM	200000	100000	50000	25000	12500	6250
Delvotest-P	ND	100	100	100	100	100
<i>B. subtilis</i> MHA 6	ND	100	83	83	67	ND
<i>B. subtilis</i> MHA 7	100	67	0	0	0	0
<i>B. subtilis</i> MHA 7	50	0	0	0	0	0
<i>B. subtilis</i> MHA 8	0	0	0	0	0	0
<i>B. subtilis</i> MM	0	0	0	0	0	0
<i>B. subtilis</i> MM	100	100	83	0	0	0
<i>B. stearothermophilus</i> AM	0	0	0	0	0	0
SMZ (ppb)						
	20	10	5	2.5	1.25	
AIM-96	100	100	67	67	0	
Charm Farm	100	100	67	67	33	
Charm II	ND	100	100	100	ND	

* Not done

K2, Disk assay, AIM 96, Charm Farm ทดสอบ 6 ครั้ง

ADM, Delvotest-P ทดสอบ 7 ครั้ง

Charm II ทดสอบ 4 ครั้ง

ตารางที่ 29 เปอร์เซ็นต์ที่ให้ผลบวกของชุดตรวจ K2 และวิธีทดสอบอื่นอีก 6 วิธี
ในการตรวจหา Sulfathiazole ในน้ำนม

วิธีตรวจ	STZ Concentration (ppb)					
	400000	200000	100000	50000	25000	12500
K2	33	33	33	33	33	33
ADM	ND*	100	100	100	100	100
Delvotest-P	ND	ND	100	86	86	43
<i>B. subtilis</i> MHA 6	ND	100	100	100	100	100
<i>B. subtilis</i> MHA 7	ND	100	67	0	0	0
<i>B. subtilis</i> MHA 8	ND	100	17	17	0	0
<i>B. subtilis</i> MM	ND	100	100	100	100	100
<i>B. stearothermophilus</i> AM	ND	0	0	0	0	0
STZ (ppb)	20	10	5	2.5	1.25	0.625
AIM 96	100	100	100	50	50	33
Charm Farm	100	100	33	17	17	17
Charm II	ND	100	100	0	ND	

* Not done

K2, Disk assay, AIM 96, Charm Farm ทดสอบ 6 ครั้ง

ADM, Delvotest-P ทดสอบ 7 ครั้ง

Charm II ทดสอบ 4 ครั้ง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 30 เปอร์เซ็นต์ที่ให้ผลบวกของชุดตรวจ K2 และวิธีทดสอบอื่นอีก 6 วิธี
ในการตรวจหา Chloramphenicol ในน้ำนม

วิธีตรวจ	CP Concentration (ppb)						
	40000	20000	10000	5000	2500	1250	625
K2	0	0	0	0	0	0	ND*
ADM	ND		17	0	0	0	0
Delvotest-P	ND		17	17	17	17	17
<i>B. subtilis</i> MHA 6	0	0	0	0	0	0	0
<i>B. subtilis</i> MHA 7	17	0	0	0	0	0	0
<i>B. subtilis</i> MHA 8	100	0	0	0	0	0	0
<i>B. subtilis</i> MM	17	0	0	0	0	0	0
<i>B. stearothermophilus</i> AM							
CP (ppb)	10000	5000	2500	1250	1000		
AIM 96	100	100	67	67	33		
Charm Farm	ND	100	100	33	ND		
CP (ppb)	480	240	120	60			
Charm II	100	100	25	0			

* Not done

K2, Disk assay, AIM 96, Charm Farm ทดสอบ 6 ครั้ง

ADM, Delvotest-P ทดสอบ 7 ครั้ง

Charm II ทดสอบ 4 ครั้ง

ตารางที่ 31 ความเข้มข้นต่ำสุดของยาด้านจุลชีพแต่ละชนิดในน้ำมันที่ตรวจพบ 100 เปอร์เซ็นต์โดยวิธีการตรวจต่าง ๆ

ยาด้านจุลชีพ	Test methods						
	K2	ADM	Delvotest- P	Disk assay	AIM 96	Charm Farm	Charm II
AC	40**	40	20	20	5	5	10
CX	20	40	40	>40	80	160	80
PG	5	20	20	20	2.5	5	5
CEP	40	20	20	10	20	20	2.5
SM	1,500	12,000	6,000	3,000	3,000	3,000	18.75
GM	480	>480	>480	960	240	240	120
KM	7,500	7,500	15,000	1,875	937.5	1,875	480
EM	400	400	800	200	400	200	100
OTC	120	120	120	240	480	480	7.5
SMZ	>400,000	<6,250	100,000	100,000	10	10	2.5
STZ	>400,000	<12,500	100,000	<12,500	5	10	5
CP	>40,000	>10,000	>10,000	40,000	5,000	2,500	240

* จากการศึกษา 5-plate คือใช้ *B. stearothermophilus* กับ AM, *B. subtilis* กับ MHA ที่ปรับ pH ให้เท่ากับ 6,7,8 และ *B. subtilis* กับ MM

** ppb