

10633台北市仁愛路四股280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.coh.org.tw

### **Test Report**

Efficacy of a New JM Nanocomposite Material in Inhibiting *Mycobacterium* tuberculosis

### **Test Reagent**

New JM nanocomposite material

### **Project Commissioner**

JM Material Technology, Inc.

### **Project Implementation Unit**

Cell Biology Laboratory, Cathay Medical Research Institute, Department of Medical Research, Cathay General Hospital

### **Testing Laboratory**

Tuberculosis Laboratory, Sijhih Cathay General Hospital

### **Project Personnel**

Cheng-Yuan Tsai, Li-Chiu Chen, Qing-Dong Ling

**Principal Investigator** 

Qing-Dong Ling

Signature:



爾泰綜合聯院

10633台北市仁豐館四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec. 4, Ren Al Road, Taipei 10633, Talwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.ora.tw

### **Abstract**

**Title:** Efficacy of A New JM Nanocomposite Material in Inhibiting *Mycobacterium tuberculosis* 

Experiment design: This project conducted laboratory tests on the efficacy of a JM nanomaterial in inhibiting *Mycobacterium tuberculosis* in a suspension. According to the Standard Operation Procedure of Communicable Diseases established by the Center for Disease Control of the Taiwan Ministry of Health and Welfare, the experiment inoculated *Mycobacterium tuberculosis* in suitable Middlebrook 7H11 agar plates and then incubated them at 36 °C with 10% CO<sub>2</sub> for 7 days until colonies formed. After cultivation, each mycobacterium formed a colony apparent to the naked eye. By calculating the number of colonies, the number of inoculated mycobacteria was inferred. In the experiment, the number of bacterial colonies in the control group was the number of inoculated mycobacteria, and the number of bacterial colonies in the experimental group was the number of bacteria remaining after being inhibited by the JM nanomaterial. The number of mycobacteria inhibited could be obtained by subtracting the number of colonies in the experimental group from the number in the control group number.

**Test agent:** New JM nanocomposite material

**Agent provider:** JM Material Technology, Inc., 5F-3, No. 40-2, Sec. 1, Minsheng N. Rd., Guishan Township, Taoyuan County



#### 爾泰綜合聯院

10633台北市仁愛路四股280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Al Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

### **Test Content**

### **Experiment Materials**

- 1. Tuberculosis bacteria source: *Mycobacterium tuberculosis* ATCC 27294 H37Rv strain
- 2. Middlebrook 7H11 agar plate: BioStar
- 3. Middlebrook 7H9 broth with OADC supplement: BioStar

### **Experimental Methods**

- 1. Mycobacterium tuberculosis preparation
  - (a) Inoculate the *Mycobacterium tuberculosis* into the Middlebrook 7H11 agar plate (7H11) and incubate at 36 °C with 10% CO<sub>2</sub> for 7 d until colonies form.
  - (b) Scrape and remove the colonies; using Middlebrook 7H9 broth with OADC supplement (7H9), prepare a bacterial suspension to the McFarland no.1 standard.
  - (c) Draw 100 uL of the tuberculosis suspension and add to 900 uL of 7H9; dilute at a ratio of 1:10.
  - (d) Mix 100 uL of the above dilution to 900 uL of 7H9 and perform a 10-fold serial dilution.

Number	1	2	3	4	5	6	
7H9 (+ Trypsin)		1000	1000	1000	1000	1000	
TB suspension	1100	0	0	0	0	0	
01-111-41							
Serial dilution	100	100	100	100	100	100 Disc	arding
Final volume	450	450	450	450	450	450	
Final concentration	Former times	10-1	10-2	10-3	10-4	10-5	

(e) Make two groups of the above preparation, labeling them as the control and experimental groups.



10633台北市仁慶路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Al Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

- 2. Culture Test for the Inoculated 7H11 Agar Plates
  - (a) Control Group
    - i. Add 6.25 uL of sterile water to each tube.
    - ii. Expose to UV at room temperature for 1 h.
    - iii. Take 100 uL of the suspension and inoculate it into 7H11; then, use a sterile, disposable inoculation loop to spread it evenly over the entire culture medium.
    - iv. Incubate at 36 °C with 10% CO<sub>2</sub> for 21 d of observation.
  - (b) Experimental Group
    - i. Add 6.25 uL of the JM nanomaterial to each tube.
    - ii. Expose to UV at room temperature for 1 h.
    - iii. Take 100 uL of the suspension and inoculate it into 7H11; then, use a sterile, disposable inoculation loop to spread it evenly over the entire culture medium.
    - iv. Incubate at 36 °C with 10% CO<sub>2</sub> for 21 d of observation.

### 3. Interpretation

group.

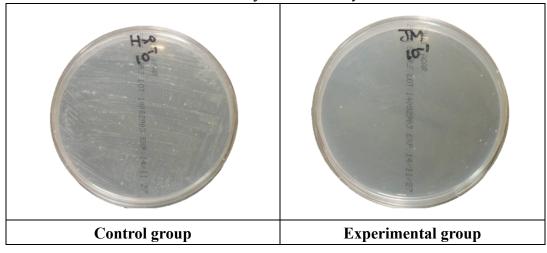
- (a) On each culture medium, six areas of 1 cm<sup>2</sup> area size were randomly observed for colony counts.
- (b) Formula for calculating the inhibitory efficacy of the JM material on *Mycobacterium tuberculosis*:
   Bacterial inhibition percentage = (Number of bacterial colonies in the control group Number of bacterial colonies in the experimental group) / Number of bacterial colonies in the control



10633台北市仁愛路四股280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Al Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.coh.org.tw

### **Test Results**

1. The following images of the 10-fold dilution experiment are indicative of the overall test results. The white spots in the control group image are *Mycobacterium tuberculosis* colonies in the 7H11 culture medium. The experimental group image clearly shows that the number of bacterial colonies in the experimental group was vastly reduced, indicating that the JM nanomaterial effectively inhibited *Mycobacterium tuberculosis*.



2.Results of the random six areas are shown in the following table:

Concentration	Control group	Experimental group	Inhibitory efficacy
Original	>1000/cm <sup>2</sup>	>1000/cm <sup>2</sup>	Could not be
Original	>1000/cm	>1000/CIII-	calculated
10-fold dilution >1000/cm <sup>2</sup>		>1000/cm <sup>2</sup>	Could not be
10-101d dilution	>1000/cm	>1000/CIII	calculated
10 <sup>2</sup> -fold dilution	>1000/cm <sup>2</sup>	>1000/cm <sup>2</sup>	Could not be
10 -ioid dilution	>1000/CIII	>1000/CIII	calculated
10 <sup>3</sup> -fold dilution	105.3/cm <sup>2</sup>	62.7/cm <sup>2</sup>	40.5%
10 <sup>4</sup> -fold dilution	19.8/cm <sup>2</sup>	7.7/cm <sup>2</sup>	61.1%
10 <sup>5</sup> -fold dilution	2.6/cm <sup>2</sup>	0.5/cm <sup>2</sup>	80.8%

3. Calculation of the inhibitory efficacy of the JM nanomaterial on Mycobacterium tuberculosis: Substituting the results of the 10<sup>5</sup>-fold dilution experiment (optimal) into the formula obtained an inhibitory efficacy of 80.8%.



國泰綜合醫院 10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec. 4, Ren Al Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

## Conclusion

The experiment results show that the JM nanomaterial is able to inhibit tuberculosis when the Mycobacterium tuberculosis is diluted 10<sup>5</sup>-fold. The percentage of Mycobacterium tuberculosis inhibition was 80.8%.



國泰綜合醫院 10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

JM 奈米新型複合材料抑制結核菌能力測試結果報告

測試試劑

JM奈米新型複合材料

計畫委託

京程科技股份有限公司

計畫執行單位

醫學研究部臨床醫學研究中心細胞生物研究室

測試實驗室

汐止國泰綜合醫院結核菌實驗室

執行人員

蔡承遠,陳麗秋,凌慶東

計畫主持人

凌慶東

新·温度



國泰綜合醫院 10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C.

Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

計畫摘要

計畫名稱:JM 奈米新型複合材料抑制結核菌能力測試

實驗設計:本計畫就 JM 奈米材料於懸浮液中對結核菌抑制作用進行實驗室測試。本實驗依據「行政院衛生署疾病管制局傳染病檢驗標準方法」,當結核菌接種於適當的 Middlebrook 7H11 固態培養基,經培養於 36°C、10% CO2 環境7天至生成菌落。培養後每一結核菌會形成一個肉眼可見菌落,藉由計算菌落數目推測接種的結核菌數量。實驗中對照組的菌落數目意為接種之結核菌數量,實驗組的菌落數目為經 JM 抑制後殘存的結核菌數量,兩者相減可得出被抑制的結核菌數量。

測試目的試劑: JM 奈米新型複合材料

試劑提供: 京程科技股份有限公司

桃園縣龜山鄉民生北路一段 40-2 號 5 樓之 3



10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel:02-27082121 www.cgh.org.tw

## 測試內容

### 實驗材料

- 甲、 結核菌株來源: Mycobacterium tuberculosis ATCC 27294
  H37Rv 菌株。
- 乙、 Middlebrook 7H11 agar plate: BioStar 商化產品。
- 丙、 Middlebrook 7H9 broth with OADC supplement: BioStar 商 化產品。

### 實驗方法

- 甲、 結核菌製備
  - i. 將結核菌接種 Middlebrook 7H11 agar plate (7H11), 36°C、10%CO2 培養 7 天至生成菌落。
  - ii. 刮除菌落,以 Middlebrook 7H9 broth with OADC supplement (7H9) 調製成 McFarland No.1 濃度細菌懸浮液。
- iii. 吸取 100 uL 結核菌懸浮液加入 900 uL 7H9, 進行 10 倍稀釋。
- iv. 將 100 uL 稀釋液加入 900 uL 7H9,進行連續 10 倍稀釋。

10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel:02-27082121 www.cgh.org.tw

編號	1	2	3	4	5	6
7H9		1000	1000	1000	1000	1000
古核菌懸浮液	1100	0	0	0	0	0
	Q	200	200	200	2	777
序列稀釋	1	00 1	00 1	.00 10	00 10	00 丢棄
序列稀釋最終體積	1000	1000	1000	1000	1000	1000 去余

V. 上述共製備兩組,分別為對照組與實驗組。

### 乙、 接種 7H11 培養測試

- i. 對照組
  - 1. 每管加入 6.25 uL 無菌水。
  - 2. 室溫照 UV 一小時。
  - 3. 取 100 uL 懸浮液接種於 7H11,然後以拋棄式無菌接種環均勻塗抹開於整片培養基。
  - 4. 置於 36℃、10%CO2培養 21 天觀察。

### ii. 實驗組

- 1. 每管加入 6.25 uL JM。
- 2. 室溫照 UV 一小時。
- 3. 取 100 uL 懸浮液接種於 7H11, 然後以拋棄式無菌接種環均勻塗抹開於整片培養基。



10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel:02-27082121 www.cgh.org.tw

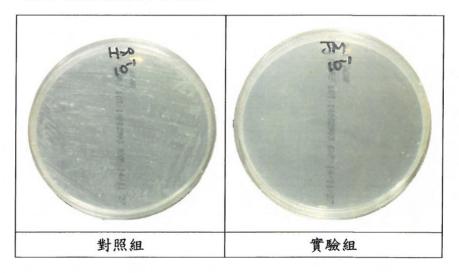
## 4. 置於 36℃、10%CO2培養 21 天觀察

### 丙、 判讀

- i. 每個培養基隨機計數六個區域,每區域面積 1 cm²。
- ii. 抑制結核菌效能之計算採用以下公式: 抑菌百分比=(對照組菌落數-實驗組菌落數)/對照組菌 落數

## 測試結果

甲、以稀釋 10 倍的實驗結果為例,7H11 培養基上白色點狀為結核菌菌落。可以看出實驗組的菌落數量大幅減少,顯示 JM 對於抑制結核菌具有效果。





10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

## 乙、隨機計數六個區域的結果如下表。

濃度	對照組	實驗組	抑菌效能
原倍	>1000/cm <sup>2</sup>	>1000/cm <sup>2</sup>	無法計算
稀釋 10 倍	>1000/cm <sup>2</sup>	>1000/cm <sup>2</sup>	無法計算
稀釋 10 <sup>2</sup> 倍	>1000/cm <sup>2</sup>	>1000/cm <sup>2</sup>	無法計算
稀釋 10 <sup>3</sup> 倍	105.3/cm <sup>2</sup>	62.7/cm <sup>2</sup>	40.5%
稀釋 104倍	19.8/cm <sup>2</sup>	7.7/cm <sup>2</sup>	61.1%
稀釋 10 <sup>5</sup> 倍	2.6/cm <sup>2</sup>	0.5/cm <sup>2</sup>	80.8%

丙、抑制結核菌效能:由稀釋 10<sup>5</sup>倍實驗(最佳)結果帶入計算得出 80.8%。

## 結論

本次實驗中顯示,當結核菌稀釋 10<sup>5</sup> 倍時 JM 對結核菌具有抑制之能力。經計算抑制能力可達 80.8%。



10633台北市仁愛諸四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tei: 02-27082121 www.cgh.org.tw

### **Test Report**

Efficacy of A New JM Nanocomposite Material in Inhibiting Enterovirus Suspension Cellular Infection

### **Test Reagent**

New JM nanocomposite material

### **Project Commissioner**

JM Material Technology Inc.

### **Project Implementation Unit**

Cell Biology Laboratory, Cathay Medical Research Institute, Department of Medical Research, Cathay General Hospital

### **Testing Laboratory**

Virology Laboratory, Cathay General Hospital, Sijhih Branch

### **Project Personnel**

Cheng-Yuan Tsai, Tsai-Yun Chu, Qing-Dong Ling

**Principal Investigator** 

Qing-Dong Ling

Signature:



10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Al Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tei: 02-27082121 www.cgh.org.tw

#### **Abstract**

**Title:** Efficacy of A New JM Nanocomposite Material in Inhibiting Enterovirus Suspension Cellular Infection

**Experiment design:** This study tested the efficacy of a new JM nanocomposite material in inhibiting enterovirus suspension cellular infection. A TCID<sub>50</sub> assay was used in an antivirus test to observe the cytopathic effect of infected cells in JM nanomaterials treated with a virus-enriched culture fluid to calculate the efficacy of JM nanomaterials inhibiting virus.

Test reagent: New JM nanocomposite material

**Reagent vendor:** JM Material Technology Inc., 5F.-3, No. 40-2, Sec. 1, Minsheng N Rd., Guishan Township, Taoyuan County



10633台北市仁慶路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Al Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

### **Test Content**

### **Experiment Materials**

Virus strain source:

Enterovirus echovirus type 11 sourced from a College of American Pathologists proficiency-testing specimen.

#### Host cell:

LLC-MK2 cells (BCRC 60092) procured from the Bioresource Collection and Research Center, Taiwan, R.O.C.

### **Experimental Methods:**

- 1. Cell culture
- (a) Inoculate the cell strains in a 24-well culture plate.
- (b) Incubate cells minimum essential medium (MEM) supplemented with 8% fetal bovine serum at 36 °C with 5% CO<sub>2</sub> for 48 h until fully grown.
- (c) Discard the culture fluid, rinse twice with phosphate buffer saline (PBS), and set aside.
- 2. Virus preparation
- (a) Inoculate the virus in culture tubes containing cell strains.
- (b) Incubate cells in MEM at 36 °C with 5% CO2 for 48 h until cytopathy occurs.
- (c) Scrape off the cells and precipitate cells by centrifugation at 6000 rpm for 2 min.
- (d) The supernatant is collected as the virus suspension.
- (e) Add 1080 uL of MEM to 120 uL of the virus suspension and dilute it at a ratio of 1:10.
- (f) Add 120 uL of the above dilution to 1080 uL of MEM and perform a 10-fold serial dilution.

Number	1	2		6	7	8	9
MEM (+ Trypsin)	900	900	•••	900	900	900	900
Virus suspension	100	0		0	0	0	0
Serial dilution	U	100 10	00 10			0 100	
Final volume	900	900		900	900	900	1000
Final concentration	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>		10 <sup>-6</sup>	10-7	10 <sup>-8</sup>	10-9



10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Al Road, Taipel 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.coh.org.tw

### 3. TCID<sub>50</sub> Assay

### Control group

Use a 24-well plate with seeded cells. Leave the 4 culture tubes in Column 1 untreated as the control, and treat Column 2 to 6 with the enterovirus by adding 200 uL of virus suspension at  $10^5$ -,  $10^6$ -,  $10^7$ -,  $10^8$ -, and  $10^9$ -fold dilutions, respectively.

### Experimental group

- (a) Prepare a 5-fold dilution by adding 100 uL of the virus suspension to 400 uL of MEM.
- (b) Prepare a 10-fold serial dilution by adding 50 uL of the dilution to 450 uL of MEM.
- (c) Prepare 1.25% disinfectant (75 uL of disinfectant + 5925 uL of MEM) and add 450 uL of the disinfectant to each of the above dilution.
- (d) Prepare 450 uL of the 1.25% disinfectant, adding it to 450 uL of virus-free MEM for the JM toxicity test.

Number	BC	B1	B2	В3	B4	B5	
MEM (+ Trypsin)	450	450	450	450	450	450	
Virus suspension	0	100	0	0	0	0	
Serial dilution		> \	> ~		<b>2</b>	27 J	>
Serial dilution	50	50	5	50 5	50 50	0 50	Discarding
1.25%	450	450	450	450	450	450	
Disinfectant	430	430	430	430		430	
Final Volume	900	900	900	900	900	900	
Final concentration	0	10 <sup>-1</sup>	10-2	10-3	10-4	10 <sup>-5</sup>	
of virus	U	10	10	10	10	10	
Final concentration	0.625%	0.625%	0.625%	0.625%	0.625%	0.625%	
of disinfectant	0.02370	0.02370	0.02370	0.02370	0.02370	0.02370	

- (e) Expose the dilution to UV for 1 h at room temperature.
- (f) Among the cell strains in the 24-well culture plate, inoculate the four wells in Column 1 for the JM toxicity test; inoculate the remaining five columns with 200 uL of 101-, 102-, 103-, 104-, and 105-fold diluted virus suspension that is treated with 0.625% of the JM nanomaterial.



10633台北市仁愛路四股280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Al Road, Taipel 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

Allow both the experimental group and control group to be infected for 1 h at 36 °C and 5% CO<sub>2</sub>, and shake them every 20 min. Add MEM (+Trypsin) to each culture tube, incubate at 36 °C with 5% CO<sub>2</sub>, and observe daily for the number of tubes displaying cell pathology. Add 1 mL of 4% formaldehyde and leave them to stand at room temperature for 1 h. Rinse them twice with tap water, add 1 mL of 0.5% crystal violet, and leave them to stand at room temperature for 5 min.

### 4. Interpretation and Calculation

- (a) The Reed–Muench method was used to calculate TCID<sub>50</sub>.
- (b) Formula for calculating viral inhibitory efficacy: percentage of inhibition =  $[1 10^{\circ} (-(viral load of the control group (Log10TCID50) viral load of the experimental group (Log10TCID50)] × 100$



10633台北市仁愛館四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Al Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

### **Test Results**

### Enterovirus

	Viral load					
Group	(Lo	g <sub>10</sub> TCII	$O_{50}$ )			
	1st	2nd	3rd			
Virus strains	6.7	7.5	6.7			
Virus strains+JM	4.5	4.3	4.7			
Cell strains	None	None	None			

Calculation of viral inhibitory efficacy:

Substituting the mean of the three test results obtained the following results:

Enterovirus inhibition percentage =  $[1-10^{\circ} (-(7.0-4.5))] \times 100 = 99.68$ 

### Conclusion

The experiment results show that a 0.625% concentration of the JM nanomaterials inhibit cellular infection of enterovirus. The percentage of viral inhibition was **99.68%**.



國泰綜合醫院 10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

JM 奈米新型複合材料抑制腸病毒懸浮液感染細胞能 力之測試結果報告

測試試劑

JM 奈米新型複合材料

計畫委託

京程科技股份有限公司

計畫執行單位

醫學研究部臨床醫學研究中心細胞生物研究室

測試實驗室

汐止國泰綜合醫院病毒實驗室

執行人員

蔡承遠,朱彩雲,凌慶東

計畫主持人

凌慶東

簽名: 2 3 7 2014-03-06



10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel:02-27082121 www.cgh.org.tw

# 計畫摘要

計畫名稱: JM 奈米新型複合材料抑制腸病毒感染能力測試

實驗設計:本計畫就 JM 奈米材料於病毒懸浮液中對腸病毒抑制作用進行實驗室測試。使用 TCID50 方法進行抗病毒測試,觀察 經 JM 材料作用後之病毒培養液中被感染細胞的細胞病變效應推算抑制病毒能力。

测試目的試劑: JM 奈米新型複合材料

試劑提供:京程科技股份有限公司

桃園縣龜山鄉民生北路一段 40-2 號 5 樓之 3

10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel:02-27082121 www.cgh.org.tw

## 測試內容

### 實驗材料

病毒株來源

腸病毒伊科十一型,來自於美國病理學會能力試驗病毒株。

宿主細胞

腸病毒使用 LLC-MK2 細胞株 (BCRC 60092), 購自生物 資源保存及研究中心。

### 實驗方法

甲、 細胞培養

- 1. 將細胞株接種於 24 孔培養盤。
- 2. 以 Minimum Essential Medium(MEM)+8% Fetal
  Bovine Serum(FBS),36℃、5%CO₂培養 48 小時至生長全滿。
- 丢棄培養液,以 Phosphate Buffer Saline (PBS) 沖洗 2
   次備用。

### 乙、 病毒製備

1. 將病毒接種於含有細胞株之培養管。



10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

- 以 MEM,36℃、5%CO2培養至48 小時至生成細胞病變。
- 3. 刮除細胞,離心 6000 rpm, 2 分鐘。
- 4. 吸取上清液即為病毒懸浮液。
- 將 120 uL 病毒懸浮液加入 1080 uL MEM,進行 10 倍稀
- 將 120 uL 稀釋液加入 1080 uL MEM,進行連續 10 倍稀
   釋。

編號	1	2		6	7	8	9	
MEM (+ Trypsin)	900	900		900	900	900	900	
病毒液	100	0		0	0	0	0	
序列稀釋	序列稀釋 100 100 100 100 100							
最終體積	900	900		900	900	900	1000	
最終濃度	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>		10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10-8	10 <sup>-9</sup>	

### 丙、 病毒 TCID<sub>50</sub> 測試

### 對照組

24 孔培養盤的細胞株,第 1 欄 4 孔不接種為細胞株品管。第 2-6 欄腸病毒分別接種 10<sup>5</sup>倍、10<sup>6</sup>倍、10<sup>7</sup>倍、10<sup>8</sup>倍、10<sup>9</sup>倍稀釋之病毒懸浮液 200 uL。

10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel:02-27082121 www.cgh.org.tw

### 實驗組

- 將 100 uL 病毒懸浮液加入 400 uL MEM,進行 5 倍 稀釋。
- 將 50 uL 稀釋液加入 450 uL MEM,進行連續 10 倍
   稀釋。
- 配製 1.25%消毒劑(75 uL 消毒劑+5925 uL MEM),
   上述每個稀釋液加入 450 uL。
- 4. 另外製備一個 1.25%消毒劑 450 uL 加入 MEM 450 uL, 不含病毒,是為 JM 毒性測試。

編號	ВС	B1	B2	В3	B4	B5	
MEM (+Trypsin)	450	450	450	450	450	450	
病毒液	0	100	0	0	0	0	
序列稀釋	50		0 5		50 5	0 丟棄	50
1.25%消毒劑	450	450	450	450	450	450	
最終體積	900	900	900	900	900	900	
病毒最終濃度	0	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10-4	10 <sup>-5</sup>	
消毒劑最終濃度	0.625%	0.625%	0.625%	0.625%	0.625%	0.625%	

- 5. 室溫照 UV 一小時。
- 6. 24 孔培養盤的細胞株,第 1 欄 4 孔接種 JM 毒性測試,其餘 5 欄分別接種 10<sup>1</sup>倍、10<sup>2</sup>倍、10<sup>3</sup>倍、10<sup>4</sup>倍、10<sup>5</sup>倍稀釋之病毒懸浮液與 0.625% JM 作用後產物 200 uL。



www.cgh.org.tw

10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121

實驗組與對照組均於 36℃、5%CO₂感染一小時,期間 每 20 分鐘搖動混合一次。以每孔加入 MEM (+ Trypsin), 36℃、5%CO₂培養至 5 天,每天觀察細胞病變孔數。加入 4% Formaldehyde 1 mL,室溫靜置一小時,以自來水沖洗 2 次再加入 0.5% Crystal violet 1 mL,室溫靜置 5 分鐘。

### 丁、 判讀與計算

- 1. TCID<sub>50</sub>之計算採用 Reed-Muench method。
- 2. 抑制病毒效能之計算公式:

抑制百分比= [1-10^(-(對照組 Viral load (Log10TCID50)

-實驗組 Viral load (Log10TCID50))] x 100

10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

## 測試結果

腸病毒

C	Viral load (Log <sub>10</sub> TCID <sub>5</sub>					
Group	1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>			
病毒株	6.7	7.5	6.7			
病毒株+JM	4.5	4.3	4.7			
細胞株	None	None	None			

計算抑制病毒效能:

以三次實驗結果平均值帶入計算:

腸病毒抑制百分比=[1-10<sup>(-(7.0-4.5))]</sup>x100=99.68

## 結論

本次實驗结果顯示, 0.625%濃度的 JM 材料具有抑制腸病毒感染細胞之能力。經計算抑制能力約為 **99.68%**。



10633台北市仁靈德四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec. 4, Ren Al Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

### **Test Report**

Efficacy of A New JM Nanocomposite Material in Inhibiting Respiratory Syncytial Virus Cellular Infection

### **Test Reagent**

New JM Nanocomposite Material

### **Project Commissioner**

JM Material Technology, Inc.

### **Project Implementation Unit**

Cell Biology Laboratory, Cathay Medical Research Institute, Department of Medical Research, Cathay General Hospital

### **Testing Laboratory**

Virology Laboratory, Sijhih Cathay General Hospital

### **Project Personnel**

Cheng-Yuan Tsai, Cai-Yun Zhu, Qing-Dong Ling

**Principal Investigator** 

Qing-Dong Ling

Signature:



10633台北市仁靈館四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec. 4, Ren Al Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

### **Abstract**

**Title:** Efficacy of A New JM Nanocomposite Material in Inhibiting Respiratory Syncytial Virus Cellular Infection

**Experiment design:** This project conducted laboratory tests on the efficacy of a JM nanomaterial in inhibiting the cellular infection of the respiratory syncytial virus in a virus suspension. A TCID<sub>50</sub> assay was used in an antivirus test to observe the cytopathic effect of infected cells in JM nanomaterials treated with a virus-enriched culture fluid to calculate the efficacy of JM nanomaterials inhibiting virus.

Test reagent: New JM nanocomposite material

**Reagent vendor:** JM Material Technology, Inc., 5F-3, No. 40-2, Sec. 1, Minsheng N Rd., Guishan Township, Taoyuan County



10633台北市仁靈館四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Al Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.ora.tw

### **Test Content**

### **Experiment Materials**

Virus strain source:

Respiratory syncytial virus (RSV) sourced from a College of American Pathologists proficiency-testing specimen

Host cell:

BCRC 60013 Vero cell line procured from the Bioresource Collection and Research Center, Taiwan, R.O.C.

### **Experimental Methods**

- 1. Cell culture
  - (a) Inoculate the Vero cell strain in a 24-well culture plate.
  - (b) Incubate cells in minimum essential medium (MEM) supplemented with 8% fetal bovine serum at 36 °C with 5% CO<sub>2</sub> for 48 h until fully grown.
  - (c) Discard the culture fluid, rinse twice with phosphate buffer saline (PBS), and set aside.
- 2. Virus preparation
  - (a) Inoculate the virus in culture tubes containing cell strains.
  - (b) Incubate cells in MEM at 36 °C with 5% CO<sub>2</sub> for 48 h until cytopathy occurs.
  - (c) Scrape off the cells and precipitate cells by centrifugation at 6000 rpm for 2 min.
  - (d) The supernatant is collected as the virus suspension.
  - (e) Add 900 uL of MEM to 100 uL of the virus suspension and dilute it at a ratio of 1:10.
  - (f) Add 100 uL of the above dilution to 900 uL of MEM and perform a tenfold serial dilution.

Number	1	2	3	4	5	
MEM (+ Trypsin)	900	900	900	900	900	
suspension	100	0	0	0	0	
Virus suspension	100	100	10			00
Final volume	900	900	900	900	900	
Final concentration	10 <sup>-1</sup>	10-2	10-3	10-4	10-5	



10633台北市仁慶館四段280號 Cathay General Hospital No. 280, Sec. 4, Ren Al Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

### 3. TCID<sub>50</sub> Assay

### Control group

Use a 24-well plate with seeded cells. Leave the 4 culture tubes in Column 1 untreated as the control, and treat Column 2 to 6 with the enterovirus by adding 200 uL of virus suspension at 10-, 10<sup>2</sup>-, 10<sup>3</sup>-, 10<sup>4</sup>-, and 10<sup>5</sup>-fold dilutions, respectively.

### Experimental group

- (a) Prepare a 5-fold dilution by adding 100 uL of the virus suspension to 400 uL of MEM.
- (b) Prepare a 10-fold serial dilution by adding 50 uL of the dilution to 450 uL of MEM.
- (c) Prepare 1.25% disinfectant (75 uL of disinfectant + 5925 uL of MEM) and add 450 uL of the disinfectant to each of the above dilution.

(d) Prepare 450 uL of the 1.25% disinfectant, adding it to 450 uL of virus-free MEM for the JM toxicity test.

							_
Number	ВС	B1	B2	В3	B4	B5	
MEM (+ Trypsin)	450	400	450	450	450	450	
Virus suspension	0	100	0	0	0	0	
Serial dilution	50		50	50	5	0 50	Discarding
1.25% Disinfectant	450	450	450	450	450	450	
Final Volume	900	900	900	900	900	900	
Final concentration of virus	0	10-1	10-2	10 <sup>-3</sup>	10-4	10 <sup>-5</sup>	
Final concentration of disinfectant	0.625%	0.625%	0.625%	0.625%	0.625%	0.625%	

- (e) Expose the dilution to UV for 1 h at room temperature.
- (f) Among the cell strains in the 24-well culture plate, inoculate the four wells in Column 1 for the JM toxicity test; inoculate the remaining five columns with 200 uL of 10<sup>1</sup>-, 10<sup>2</sup>-, 10<sup>3</sup>-, 10<sup>4</sup>-, and 10<sup>5</sup>-fold diluted virus suspension that is treated with 0.625% of the JM nanomaterial.



10633台北市仁豐館四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec. 4, Ren Al Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.ora.tw

Allow both the experimental group and control group to be infected for 1 h at 36 °C and 5% CO<sub>2</sub>, and shake them every 20 min. Add to each culture tube, incubate at 36 °C with 5% CO<sub>2</sub>, observe daily for the number of tubes displaying cell pathology. Add 1 mL of 4% formaldehyde and leave them to stand at room temperature for 1 h. Rinse them twice with tap water, add 1 mL of 0.5% crystal violet, and leave them to stand at room temperature for 5 min.

### 4. Interpretation and Calculation

- (a) The Reed–Muench method was used to calculate TCID<sub>50</sub>.
- (b) Formula for calculating viral inhibitory efficacy: Inhibition percentage =  $[1 10^{\circ} (- (viral load of the control group (Log10TCID50) viral load of the experimental group (Log10TCID50)] <math>\times$  100



10633台北市仁慶館四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Al Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

### **Test Results**

### Respiratory Syncytial Virus

	,	Viral load	ì
Group	(L	og <sub>10</sub> TCII	<b>)</b> 50)
	1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>
Virus strains	3.0	4.5	4.7
Virus strains + JM	2.5	4.0	3.7
Cell strains	None	None	None
Cell strains + JM	None	None	None

Calculation of viral inhibitory efficacy:

Substituting the values of the third test into the formula obtained the following results:

Respiratory syncytial virus inhibition percentage

$$= [1 - 10^{\circ} (-(4.7 - 3.7)] \times 100 = 90.00$$

## **Conclusion**

The experiment results show that a 0.625% concentration of the JM nanomaterials inhibit cellular infection of respiratory syncytial viruses. The percentage of viral inhibition was **90.00%**.



10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel:02-27082121 www.cgh.org.tw

JM 奈米新型複合材料抑制呼吸道融合病毒感染細胞 能力之測試結果報告

測試試劑

JM奈米新型複合材料

計畫委託

京程科技股份有限公司

計畫執行單位

醫學研究部臨床醫學研究中心細胞生物研究室

測試實驗室

汐止國泰綜合醫院病毒實驗室

執行人員

蔡承遠,朱彩雲,凌慶東

計畫主持人

凌慶東

签名: 25·1度中



10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

## 計畫摘要

計畫名稱: JM 奈米新型複合材料抑制呼吸道融合病毒感染細胞能力 之測試

實驗設計:本計畫就 JM 奈米材料於病毒懸浮液中對呼吸道融合病毒抑制作用進行實驗室測試。使用 TCID50 方法進行抗病毒測試,觀察經 JM 材料作用後之病毒培養液中被感染細胞的細胞病變效應推算抑制病毒能力。

测試目的試劑: JM 奈米新型複合材料

試劑提供:京程科技股份有限公司

桃園縣龜山鄉民生北路一段 40-2 號 5 樓之 3

10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel:02-27082121 www.cgh.org.tw

## 測試內容

### 實驗材料

病毒株來源

Respiratory Syncytial Virus (RSV),來自於美國病理學會能力試驗病毒株。

宿主細胞

Vero 細胞株 (BCRC 60013), 購自生物資源保存及研究中心。

### 實驗方法

甲、 細胞培養

- 1. 將 Vero 細胞株接種於 24 孔培養盤。
- 以 Minimum Essential Medium (MEM) +8% Fetal
   Bovine Serum (FBS), 36℃、5%CO2 培養 48 小時至生長全滿。
- 丢棄培養液,以 Phosphate Buffer Saline (PBS) 沖洗 2
   次備用。

## 乙、 病毒製備

1. 將病毒接種於含有細胞株之培養管。

10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

- 以 MEM,36℃、5%CO2培養至48 小時至生成細胞病變。
- 3. 刮除細胞,離心 6000 rpm, 2分鐘。
- 4. 吸取上清液即為病毒懸浮液。
- 5. 將 100 uL 病毒懸浮液加入 900 uL MEM, 進行 10 倍稀 釋。
- 將 100 uL 稀釋液加入 900 uL MEM,進行連續 10 倍稀
   釋。

編號	1	2	3	4	5	
MEM	900	900	900	900	900	
病毒液	100	0	0	0	0	
		220	775	7	775	1
序列稀釋	1	00 1	00 1	00 10	00 100	)
序列稀釋 最終體積	900	900	900	900	900	)

### 丙、 病毒 TCID<sub>50</sub> 測試

### 對照組

24 孔培養盤的細胞株,第 1 欄 4 孔不接種為細胞株品管。第 2-6 欄腸病毒分別接種 10 倍、10<sup>2</sup>倍、10<sup>3</sup>倍、10<sup>4</sup>倍、10<sup>5</sup>倍稀釋之病毒懸浮液 200 uL。

### 實驗組

1. 將 100 uL 病毒懸浮液加入 400 uL MEM, 進行 5 倍

10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel:02-27082121 www.cgh.org.tw

稀釋。

- 将 50 uL 稀釋液加入 450 uL MEM, 進行連續 10 倍
   稀釋。
- 配製 1.25%消毒劑(75 uL 消毒劑+5925 uL MEM),
   上述每個稀釋液加入 450 uL。
- 4. 另外製備一個 1.25%消毒劑 450 uL 加入 MEM 450 uL, 不含病毒, 是為 JM 毒性測試。

編號	BC	B1	B2	В3	B4	B5
MEM	450	400	450	450	450	450
病毒液	0	100	0	0	0	0
序列稀釋	50	50	50 50		2	50 £
				_	-	
1.25%消毒劑	450	450	450	450	450	450
-		450		450	450	

- 5. 室溫照 UV 一小時。
- 6. 24 孔培養盤的細胞株,第1欄4孔接種JM 毒性測試,其餘5欄分別接種10<sup>1</sup>倍、10<sup>2</sup>倍、10<sup>3</sup>倍、10<sup>4</sup>倍、10<sup>5</sup>倍稀釋之病毒懸浮液與0.625%JM作用後產物200 uL。

實驗組與對照組均於 36℃、5%CO2 感染一小時,期間每 20 分鐘搖動混合一次。以每孔加入 MEM,36℃、5%CO2



10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel:02-27082121 www.cgh.org.tw

培養至 5 天,每天觀察細胞病變孔數。加入 4% Formaldehyde 1 mL,室溫靜置一小時,以自來水沖洗 2 次再加入 0.5% Crystal violet 1 mL,室溫靜置 5 分鐘。

#### 丁、 判讀與計算

- 1. TCID<sub>50</sub>之計算採用 Reed-Muench method。
- 2. 抑制病毒效能之計算公式:

抑制百分比=[1-10^(-(對照組 Viral load (Log10TCID50)

-實驗組 Viral load (Log10TCID50))] x 100

10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel:02-27082121 www.cgh.org.tw

## 測試結果

呼吸道融合病毒

Cuarra	Viral load (Log <sub>10</sub> TCID <sub>5</sub>			
Group	1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>	
病毒株	3.0	4.5	4.7	
病毒株+JM	2.5	4.0	3.7	
細胞株	None	None	None	
細胞株+JM	None	None	None	

計算抑制病毒效能:

以第三次實驗結果值帶入計算:

呼吸道融合病毒抑制百分比=[1-10<sup>(-(4.7-3.7))]</sup>x100=90.00

#### 結論

本次實驗结果顯示,0.625%濃度的JM材料具有抑制呼吸道融合病毒感染細胞之能力。經計算抑制能力可達 90.00%。



#### 國泰綜合聯院

10633台北市仁臺路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Al Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

#### **Test Report**

Efficacy of A New JM Nanocomposite Material in Inhibiting Influenza A (H1N1) Virus Infection

#### **Test Reagent**

New JM nanocomposite material

#### **Project Commissioner**

JM Material Technology Inc.

#### **Project Implementation Unit**

Cell Biology Laboratory, Cathay Medical Research Institute, Department of Medical Research, Cathay General Hospital

#### **Testing Laboratory**

Virology Laboratory, Cathay General Hospital, Sijhih Branch

#### **Project Personnel**

Cheng-Yuan Tsai, Tsai-Yun Chu, Qing-Dong Ling

**Principal Investigator** 

Qing-Dong Ling

Signature:



#### 國泰綜合聯院

10633台北市任營務四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Al Road, Taipei 10633, Talwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

#### **Abstract**

**Title**: Efficacy of A New JM Nanocomposite Material in Inhibiting Influenza A (H1N1) Virus Infection

**Experiment design:** This study tested the efficacy of a new JM nanocomposite material in inhibiting influenza A virus (H1N1) infection. A TCID<sub>50</sub> assay was used in an antivirus test to observe the cytopathic effect of infected cells in JM nanomaterials treated with a virus-enriched culture fluid to calculate the efficacy of JM nanomaterials inhibiting virus.

**Test reagent:** New JM nanocomposite material

**Reagent Vendor:** JM Material Technology Inc., 5F-3, No.40-2, Sec.1, Minsheng N. Rd., Guishan Township, Taoyuan County



10633台北市仁臺路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Al Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.ora.tw

#### **Test Content**

#### **Experiment Materials**

#### Virus strain source:

Influenza A virus - New Caledonia/20/99 (H1N1) sourced from a College of American Pathologists proficiency-testing specimen

#### Host cells

MDCK cell strains (BCRC 60004) procured from the Bioresource Collection and Research Center, Taiwan, R.O.C.

#### **Experimental Methods**

#### 1. Cell culture

- (a) Inoculate the cell strains in a 24-well culture plate.
- (b) Incubate cells minimum essential medium (MEM) supplemented with 8% fetal bovine serum at 36 °C with 5% CO<sub>2</sub> for 48 h until fully grown.
- (c) Discard the culture fluid, rinse twice with phosphate buffer saline (PBS), and set aside.

#### 2. Virus preparation

- (a) Inoculate the virus in culture tubes containing cell strains
- (b) Incubate cells in MEM and 2 μg/mL trypsin at 36 °C with 5% CO2 for 48 h until cytopathy occurs.
- (c) Scrape off the cells and precipitate cells by centrifugation at 6000 rpm for 2 min.
- (d) The supernatant is collected as the virus suspension.
- (e) Add 1080 uL of MEM to 120 uL of the virus suspension and dilute it at a ratio of 1:10.
- (f) Add 120 uL of the above dilution to 1080 uL of MEM and perform a 10-fold serial dilution.

Number	1	2	•••	6	7	8	9
MEM (+trypsin)	900	900		900	900	900	900
Virus suspension	100	0		0	0	0	0
Serial dilution	100 100 100 100 100						
Final volume	900	900	•••	900	900	900	1000
Final concentration	10-1	10-2		10-6	10-7	10-8	10-9



爾泰綜合醫院

10633台北市仁臺路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Al Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

#### 3. TCID<sub>50</sub> Assay

#### Control group

Use a 24-well plate with seeded cells. Leave the 4 culture tubes in Column 1 untreated as the control, and treat Column 2 to 6 with the enterovirus by adding 200 uL of virus suspension at 10<sup>1</sup>-, 10<sup>2</sup>-, 10<sup>3</sup>-, 10<sup>4</sup>-, and 10<sup>5</sup>-fold dilutions, respectively.

#### Experimental group

- (a) Prepare a 5-fold dilution by adding 100 uL of the virus suspension to 400 uL of MEM.
- (b) Prepare a 10-fold serial dilution by adding 50 uL of the dilution to 450 uL of MEM.
- (c) Prepare 1.25% disinfectant (75 uL of disinfectant + 5925 uL of MEM) and add 450 uL of the disinfectant to each of the above dilution.
- (d) Prepare 450 uL of the 1.25% disinfectant, adding it to 450 uL of virus-free MEM for the JM toxicity test.
- (e) Expose the dilution to UV for 1 h at room temperature.
- (f) Among the cell strains in the 24-well culture plate, inoculate the four wells in Column 1 for the JM toxicity test; inoculate the remaining five columns with 200 uL of 10<sup>1</sup>-, 10<sup>2</sup>-, 10<sup>3</sup>-, 10<sup>4</sup>-, and 10<sup>5</sup>-fold diluted virus suspension that is treated with 0.625% of the JM nanomaterial.

No.	BC	B1	B2	В3	B4	В5	
MEM (+trypsin)	450	450	450	450	450	450	
Virus suspension	0	100	0	0	0	0	
Serial dilution	50	5	0 5	0 5	50 50	0 Disca	rding
1.25% disinfectant	450	450	450	450	450	450	
Final volume	900	900	900	900	900	900	
Final concentration of virus	0	10-1	10-2	10-3	10-4	10-5	
Final concentration of disinfectant	0.625%	0.625%	0.625%	0.625%	0.625%	0.625%	



10633台北市仁臺路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Al Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

Allow both the experimental group and control group to be infected for 1 h at 36 °C and 5% CO<sub>2</sub>, and shake them every 20 min. Add MEM (+Trypsin) to each culture tube, incubate at 36 °C with 5% CO<sub>2</sub>, and observe daily for the number of tubes displaying cell pathology. Add 1 mL of 4% formaldehyde and leave them to stand at room temperature for 1 h. Rinse them twice with tap water, add 1 mL of 0.5% crystal violet, and leave them to stand at room temperature for 5 min.

#### 4. Interpretation and Calculation

- 1. The Reed–Muench method was used to calculate TCID<sub>50</sub>.
- 2. Formula for calculating viral inhibitory efficacy: percentage of inhibition = [1 10^ (-(viral load of the control group (Log10TCID50) viral load of the experimental group (Log10TCID50)] x 100



國泰綜合醫院 10633台北市仁委路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Al Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

#### **Test results**

Influenza A virus (H1N1)

	7	iral loa	d		
Group	$(Log_{10}TCID_{50})$				
	1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>		
Virus strains	4.0	5.7	5.7		
Virus strains +JM	2.5	3.2	4.0		
Cell strains	None	None	None		
Cell strains +JM	None	None	None		

Calculation of viral inhibitory efficacy:

Substituting the mean of the three test results obtained the following results:

Influenza virus inhibition percentage =  $[1-10^{\circ} (-(5.1-3.2))] \times 100 = 98.74$ 

#### Conclusion

The experiment results show that a 0.625% concentration of the JM nanomaterials inhibit cellular infection of influenza A virus. The percentage of viral inhibition was 98.74%.



國泰綜合醫院 10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

JM 奈米新型複合材料抑制 A 型流行性感冒病毒 (H1N1)病毒懸浮液感染細胞能力之測試結果報告

測試試劑

JM 奈米新型複合材料

計畫委託

京程科技股份有限公司

計畫執行單位

醫學研究部臨床醫學研究中心細胞生物研究室

測試實驗室

汐止國泰綜合醫院病毒實驗室

執行人員

蔡承遠,朱彩雲,凌慶東

計畫主持人

凌慶東

簽名: 25. 78 \$ 2014-03-06



www.cgh.org.tw

10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121

## 計畫摘要

計畫名稱: JM 奈米新型複合材料抑制 A 型流行性感冒病毒(H1N1)病毒感染能力測試

實驗設計:本計畫就 JM 奈米材料於病毒懸浮液中對 A 型流行性感冒 (A 流感) 病毒(H1N1)之抑制作用進行實驗室測試。使用 TCID50方法進行抗病毒測試,觀察經 JM 材料作用後之病 毒培養液中被感染細胞的細胞病變效應推算抑制病毒能力。

測試目的試劑: JM 奈米新型複合材料

試劑提供:京程科技股份有限公司

桃園縣龜山鄉民生北路一段 40-2 號 5 樓之 3

10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

#### 測試內容

#### 實驗材料

病毒株來源

A 流感病毒 New Caledonia/20/99 (H1N1), 來自於美國 病理學會能力試驗病毒株。

宿主細胞

MDCK 細胞株 (BCRC 60004), 購自生物資源保存及研究中心。

#### 實驗方法

甲、 細胞培養

- 1. 將細胞株接種於 24 孔培養盤。
- 2. 以 Minimum Essential Medium(MEM)+8% Fetal

  Bovine Serum(FBS), 36℃、5%CO₂培養 48 小時至生
  長全滿。
- 丢棄培養液,以 Phosphate Buffer Saline (PBS) 沖洗 2
   次備用。

#### 乙、 病毒製備

1. 將病毒接種於含有細胞株之培養管。

10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121

vww.cgh.org.tw

- 以 MEM+2 μg/ mL Trypsin, 36°C、5%CO₂ 培養至 48 小 時至生成細胞病變。
- 3. 刮除細胞,離心 6000 rpm, 2分鐘。
- 4. 吸取上清液即為病毒懸浮液。
- 5. 將 120 uL 病毒懸浮液加入 1080 uL MEM,進行 10 倍稀 釋。
- 將 120 uL 稀釋液加入 1080 uL MEM,進行連續 10 倍稀
   釋。

編號	1	2		6	7	0	
WHO THE	1			0	,	8	9
MEM (+ Trypsin)	900	900		900	900	900	900
病毒液	100	0		0	0	0	0
序列稀釋	100 100 100 100 100						
最終體積	900	900		900	900	900	1000
最終濃度	10 <sup>-1</sup>	10-2		10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10-8	10 <sup>-9</sup>

#### 丙、 病毒 TCID<sub>50</sub> 測試

#### 對照組

24 孔培養盤的細胞株,第1欄4孔不接種為細胞株品管。第2-6欄A流感病毒分別接種10<sup>1</sup>倍、10<sup>2</sup>倍、10<sup>3</sup>倍、10<sup>4</sup>倍、10<sup>5</sup>倍稀釋之病毒懸浮液200 uL。

#### 實驗組

10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel:02-27082121 www.cgh.org.tw

- 1. 將 100 uL 病毒懸浮液加入 400 uL MEM, 進行 5 倍 稀釋。
- 將 50 uL 稀釋液加入 450 uL MEM, 進行連續 10 倍
   稀釋。
- 配製 1.25%消毒劑(75 uL 消毒劑+5925 uL MEM),
   上述每個稀釋液加入 450 uL。
- 4. 另外製備一個 1.25%消毒劑 450 uL 加入 MEM 450 uL, 不含病毒,是為 JM 毒性測試。

編號	ВС	B1	B2	В3	B4	B5
MEM (+ Trypsin)	450	450	450	450	450	450
病毒液	0	100	0	0	0	0
序列稀釋	5				50 5	0 丢棄
1.25%消毒劑	450	450	450	450	450	450
最終體積	900	900	900	900	900	900
病毒最終濃度	0	10-1	10-2	10 <sup>-3</sup>	10-4	10 <sup>-5</sup>
消毒劑最終濃度	0.625%	0.625%	0.625%	0.625%	0.625%	0.625%

- 5. 室溫照 UV 一小時。
- 6. 24 孔培養盤的細胞株,第1欄4孔接種JM毒性測試,其餘5欄分別接種10<sup>1</sup>倍、10<sup>2</sup>倍、10<sup>3</sup>倍、10<sup>4</sup>倍、10<sup>5</sup>倍稀釋之病毒懸浮液與0.625%JM作用後產物200 uL。



10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel:02-27082121 www.cgh.org.tw

實驗組與對照組均於 36℃、5%CO2 感染一小時,期間 每 20 分鐘搖動混合一次。以每孔加入 MEM (+ Trypsin), 36℃、5%CO2 培養至 5 天,每天觀察細胞病變孔數。加入 4% Formaldehyde 1 mL,室溫靜置一小時,以自來水沖洗 2 次再加入 0.5% Crystal violet 1 mL,室溫靜置 5 分鐘。

#### 丁、 判讀與計算

- 1. TCID<sub>50</sub>之計算採用 Reed-Muench method。
- 2. 抑制病毒效能之計算公式:

抑制百分比=[1-10^(-(對照組 Viral load (Log10TCID50)

-實驗組 Viral load (Log10TCID50) )] x 100

10633台北市仁愛路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec.4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

## 測試結果

A型流行性感冒病毒

	Viral lo	Viral load (Log <sub>10</sub> TCID <sub>5</sub>			
Group	1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>		
病毒株	4.0	5.7	5.7		
病毒株+JM	2.5	3.2	4.0		
細胞株	None	None	None		
細胞株+JM	None	None	None		

計算抑制病毒效能:

以三次實驗結果平均值帶入計算:

流感病毒抑制百分比=[1-10<sup>(-(5.1-3.2))]</sup>x100=98.74

#### 結論

本次實驗结果顯示, 0.625%濃度的 JM 材料具有抑制 A 型流行性感冒病毒感染細胞之能力。經計算抑制能力約為 98.74%。



#### 財團法人食品工業發展研究所

#### 生物資源保存及研究中心

## Food Industry Research and Development Institute

#### Bioresource Collection and Research Center

新竹市食品路 331 號 http://www.firdi.org.tw 331, Shih-Pin Road, Hsinchu 300, Taiwan Fax:+886-3-5224172 TEL:+886-3-5223191



#### 委託試驗報告 TEST REPORT

委 託 者 Applicant : 京程科技股份有限公司

取 樣 者 Sampler :京程科技股份有限公司

樣品名稱 Sample Name: JM-TTA01

包裝型態Package Type:非市售包裝

批 號 Lot No. : 報告書號碼 Report No.: 2016CT113

收件日期Date Received: 2016/05/10

簽發日期Date Issued: 2016/05/18

樣品編號Sample No.: 2016CT113

樣品狀態Sample Status:

試 驗 目

(Item)

結 (Results)

抗菌試驗

參考「TN-002 奈米光觸媒抗菌陶瓷面磚驗證規範」之評 估標準, JM-TTA01 樣品經紫外光燈照射 24 小時後,對 肺炎鏈球菌(Streptococcus pneumoniae **BCRC** 14733) 之抗菌率為 99.88%。 試驗內容,詳如附件。 以下空白

Authorized Representative:



1. 本分析結果,僅對委託者所送樣品負責。

The results in this report are valid only to the sample sent by the applicant.

2. 委託者所送樣品是否適用於人體(接觸、吸入、食用等),非本試驗之範圍。

Whether the sample sent by the applicant can be applied to human in any way (contact, inhalation, ingestion, etc.) is beyond the scope of this test.

3. 本報告所載事項,僅做參考資料,若貴公司/單位擬做為廣告、公證或商業推銷用途,應經本所同意。 This report is for reference only, if it is used for advertisement, sales promotion, or notarial use, please consult FIRDI first.



## 委託試驗報告

## JM-TTA01 對肺炎鏈球菌 (Streptococcus pneumoniae BCRC 14733) 之抗菌試驗

#### 一、摘要

委託檢測 JM-TTA01 對肺炎鏈球菌 (Streptococcus pneumoniae BCRC 14733) 之抗菌效果。結果顯示:參考「TN-002 奈米光觸媒抗菌陶瓷面磚驗證規範」之評估標準,JM-TTA01 樣品經紫外光燈照射24 小時後,對肺炎鏈球菌 (S. pneumoniae BCRC 14733) 之抗菌率為99.88%。

#### 二、背景資料

試驗編號:2016CT113 樣品名稱:JM-TTA01

檢驗方法:TN-002 奈米光觸媒抗菌陶瓷面磚驗證規範

附錄 1 奈米光觸媒抗菌陶瓷面磚抗菌功能試驗方法

照光條件: UV-A 365nm、0.2mW/cm<sup>2</sup>、24 小時

測 試 面:非打叉面

#### 三、結果與討論

經接種試驗菌株在樣品上,以紫外光燈照射 24 小時後,以培養 基測其菌數,試驗結果如表一所示。

#### 表一、樣品對肺炎鏈球菌 (S. pneumoniae BCRC 14733) 之抗菌情形

			• The second statement can	
試驗組別	接種後立即洗下	明條件 24 小時後	暗條件 24 小時後	抗菌率
武 例 然上 力	菌數(CFU <sup>1</sup> /片)	菌數(CFU/片)	菌數(CFU/片)	(%)
	A =	B1 =	B0 =	
空白組	$3.15 \times 10^{5}$	$3.05 \times 10^5$	$1.93 \times 10^{6}$	
alia mena a			D0 =	
對照組			$1.67 \times 10^{6}$	
樣品組	2	C1 =	C0 =	
[JM-TTA01]		$8.00 \times 10^{2}$	6.80 10 EVE	29.88
				11-11

四、附註說明

試驗結果以抗菌率 (R%) 表示,計算公式如 暗條件24小時菌數(C0)-明條件24小時菌

抗菌率 = 暗條件 24 小時菌數(C0)

7003 ×100 %

¹CFU: 京落

#### 財團法人食品工業發展研究所 函

發文日期: 103. 3. 12 發文文號:食研菌字第 <sub>10301340</sub> 號(附件隨文)

33391

桃園縣龜山鄉民生北路一段40-2號5F-3

受文者: 京程科技股份有限公司 藍崇禎 先生/小姐

主 旨: 檢送貴單位委託本所,『抗菌試驗』試驗報告乙份,報告書號

碼:2014CT050,如附件,請查收

#### 說 明:

- 一、本案係 貴單位委託試驗。
- 二、該試驗案係普通件,工本費為新台幣7,000元整。

## 財團法人食品工業發展研究所

#### 生物資源保存及研究中心

# Food Industry Research and Development Institute

Bioresource Collection and Research Center

http://www.firdi.org.tw 新竹市食品路 331 號 331, Shih-Pin Road, Hsinchu 300, Taiwan TEL:+886-3-5223191 Fax:+886-3-5224172



#### 委託試驗報告 **TEST REPORT**

委 託 者 Applicant : 京程科技股份有限公司

取 樣 者 Sampler :京程科技股份有限公司

樣品名稱SampleName: JM-TTA01-N000

的裝型態Package Type:散裝

號 Lot No. : 批

報告書號碼 Report No.: 2015CT281

收件日期Date Received: 2015/11/16

簽發日期Date Issued: 2015/11/26

樣品編號Sample No.: 2015CT281

樣品狀態Sample Status:

(Item)

結 (Results)

抗菌試驗

參考「TN-002 奈米光觸媒抗菌陶瓷面磚驗證規範」之評 估標準, JM-TTA01-N000 樣品經紫外光燈照射 24 小時 後,對金黃色葡萄球菌之甲氧西林抗性株 (MRSA BCRC 15211) 之抗菌率為大於 99.03 %。 試驗內容,詳如附件。 以下空白

Authorized Representative

備註

1. 本分析結果,僅對委託者所送樣品負責。

The results in this report are valid only to the sample sent by the applicant.

2. 委託者所送樣品是否適用於人體(接觸、吸入、食用等),非本試驗之範圍。

Whether the sample sent by the applicant can be applied to human in any way (contact, inhalation, ingestion, etc.) is beyond the scope of this test.

3. 本報告所載事項,僅做參考資料,若貴公司/單位擬做為廣告、公證或商業推銷用途,應經本所同意。 This report is for reference only, if it is used for advertisement, sales promotion, or notarial use, please consult FIRDI first. 附件: 2015CT281 第 1 頁 / 全 1 頁

# 委託試驗報告

JM-TTA01-N000 對金黃色葡萄球菌之 甲氧西林抗性株 (MRSA BCRC 15211) 之抗菌試驗

#### 一、摘要

委託檢測 JM-TTA01-N000 對金黃色葡萄球菌之甲氧西林抗性株 (MRSA BCRC 15211) 之抗菌效果。結果顯示:參考「TN-002 奈米光 觸媒抗菌陶瓷面磚驗證規範」之評估標準,JM-TTA01-N000 樣品經 紫外光燈照射 24 小時後,對金黃色葡萄球菌之甲氧西林抗性株 (MRSA BCRC 15211) 之抗菌率為大於 99.03%。

#### 二、背景資料

試驗編號: 2015CT281

樣品名稱: JM-TTA01-N000

檢驗方法:TN-002 奈米光觸媒抗菌陶瓷面磚驗證規範

附錄 1 奈米光觸媒抗菌陶瓷面磚抗菌功能試驗方法

照光條件: UV-A 365nm、0.2mW/cm<sup>2</sup>、24 小時

測 試 面:非打叉面

#### 三、結果與討論

經接種試驗菌株在樣品上,以紫外光燈照射 24 小時後,以 Nutrient Agar 培養基測其菌數,試驗結果如表一所示。

表一、樣品對金黃色葡萄球菌之甲氧西林抗性株 (MRSA BCRC 15211) 之抗菌情形

試驗組別	接種後立即洗下	明條件 24 小時後	暗條件 24 小時後	抗菌率
时间效 忘丘刀门	菌數(CFU <sup>1</sup> /片)	菌數(CFU/片)	菌數(CFU/片)	(%)
	A =	B1 =	B0 =	
空白組	$2.37 \times 10^5$	$1.12 \times 10^4$	$4.40 \times 10^5$	
			D0 =	
對照組			$1.75 \times 10^{6}$	
樣品組	2	C1 =	C0 =	
[JM-TTA01-N000]	*	< 10	$1.03 \times 10^{3}$	> 99.03
		#		

¹CFU:菌落形成單位 ² 免填數據

#### 四、附註說明

試驗結果以抗菌率 (R%)表示,計算公式如下:

暗條件24小時菌數(C0) - 明條件24小時菌數(C1)

抗菌率 = 暗條件 24 小時菌數(C0)





#### 財團法人 食品工業發展研究所

Food Industry Research and Development Institute

新竹市食品路 331 號 http://www.firdi.org.tw 331, Shih-Pin Road, Hsinchu 300, Taiwan TEL:+886-3-5223191 Fax:+886-3-5224172



#### 委託試驗報告 TEST REPORT

委託者: 京程科技股份有限公司 報告書號碼:2014CT050 **Applicant** Report No. 取 樣 者: 京程科技股份有限公司 收件日期: 2014/02/25 Sampler Date Received 2014/03/11 簽發日期: 奈米新型複合材料(散裝) 物品名稱: Name of Article Date Issued 結 果 試 驗 項 目

(Items)

(Results)

抗菌試驗

依據「TN-050 奈米銀抗菌衛生陶瓷器驗證規 範」之評估標準,奈米新型複合材料(散裝)樣 品對金黃色葡萄球菌 (Staphylococcus aureus BCRC 10451) 之抗菌率為 99.71%, 樣品對大腸 桿菌 (Escherichia coli BCRC 11634) 抗菌率 為 99.52%。

試驗內容,詳如附件。 以下空白

者:

Authorized Representative:



#### 備註

Note:

1. 本分析結果,僅對委託者所送樣品負責。

The results in this report are valid only to the sample sent by the applicant.

2. 委託者所送樣品是否適用於人體(接觸、吸入、食用等),非本試驗之範圍。

Whether the sample sent by the applicant can be applied to human in any way (contact, inhalation, ingestion, etc.) is beyond the scope of this test.

3. 本報告所載事項,僅做參考資料,若貴公司/單位擬做為廣告、公證或商業推銷用途,應經本所同意。 This report is for reference only, if it is used for advertisement, sales promotion, or notarial use, please consult FIRDI first.

附件: 2014CT050 第 1 頁 / 全 2 頁

# 委託試驗報告

奈米新型複合材料 (散裝) 對金黃色葡萄球菌 (Staphylococcus aureus BCRC 10451) 及大腸桿菌 (Escherichia coli BCRC 11634) 之抗菌試驗

#### 一、摘要

委託檢測奈米新型複合材料 (散裝) 對金黃色葡萄球菌 (Staphylococcus aureus BCRC 10451) 及大腸桿菌 (Escherichia coli BCRC 11634) 之抗菌效果。結果顯示:依據「TN-050 奈米銀抗菌衛生陶瓷器驗證規範」之評估標準,奈米新型複合材料 (散裝) 樣品對金黃色葡萄球菌 (S. aureus BCRC 10451) 之抗菌率為 99.71%,樣品對大腸桿菌 (E.coli BCRC 11634) 抗菌率為 99.52%。

#### 二、背景資料

試驗編號:2014CT050

樣品名稱: 奈米新型複合材料(散裝)

檢驗方法:TN-050 奈米抗菌塗料驗證規範

附錄2 奈米抗菌塗料抗菌功能試驗方法

測 試 面:無打叉面

#### 三、結果與討論

經接種試驗菌株在樣品上,作用 24 小時後,以 Nutrient Agar 培養基測其菌數,試驗結果如表一及表二所示。

#### 四、附註說明

試驗結果以抗菌率 (R%)表示,計算公式如下:

附件: 2014CT050 第 2 頁 / 全 2 頁

表一、樣品對金黃色葡萄球菌 (S. aureus BCRC 10451) 之抗菌情形

試驗組別	接種後立即洗下菌數 (CFU <sup>1</sup> /片)	24 小時後菌數 (CFU/片)	
空白組	A0' = $1.42 \times 10^5$	A' = $1.42 \times 10^5$	
對照組	$A0 = 1.23 \times 10^5$	$A = 2.08 \times 10^5$	
樣品組		$C = 6.00 \times 10^2$	99.71

¹ CFU:菌落形成單位 ²免填數據 ³NA:T>B,故無法計算

表二、樣品對大腸桿菌 (E. coli BCRC 11634) 之抗菌情形

<b>火</b> — 水品。	I) CM 中国 (L. CON DOR	C 1105 1) — 机图 阴 //	
試驗組別	接種後立即洗下菌數	24 小時後菌數	抗菌率
时内效《丘刀门	(CFU/片)	(CFU/片)	(%)
	A0' =	A' =	
空白組	$3.10 \times 10^{5}$	$5.20 \times 10^{7}$	
工口畑			
	$A0 = 2.68 \times 10^5$	$A = 4.60 \times 10^7$	
對照組	2.68 × 10	$4.60 \times 10$	
		C =	
14 - 1		5	99.52
樣品組	E ARCH &	DEVE	<i>,</i> , , , , ,
	SE ARCH 8	100	
	(金/財團法)	食品宣	
	SI重要展	研究所)	
	財團法工業發展	(5)	

#### 財團法人食品工業發展研究所 函

發文日期: 106.8.18 發文文號: 食研菌字第 10605467 號(附件隨文)

33391

桃園市龜山區民生北路一段40-2號5F-3

受文者: 京程科技股份有限公司 褚雅婷 先生/小姐

主 旨: 檢送貴單位委託本所,『抗菌試驗』試驗報告乙份,報告書號

碼:2017CT181,如附件,請查收。



#### 說 明:

- 一、本案係 貴單位委託試驗。
- 二、該試驗案係普通件,工本費為新台幣5,500元整。



#### 財團法人食品工業發展研究所

#### 生物資源保存及研究中心

## Food Industry Research and Development Institute

#### Bioresource Collection and Research Center

新竹市食品路 331 號 http://www.firdi.org.tw 331, Shih-Pin Road, Hsinchu 300, Taiwan TEL:+886-3-5223191 Fax:+886-3-5224172



#### 委託試驗報告 TEST REPORT

委 託 者 Applicant : 京程科技股份有限公司

取 様 者 Sampler

: 京程科技股份有限公司

樣品名稱Sample Name: JM-TTA01

包裝型態Package Type:散裝

號 Lot No. : 批

報告書號碼 Report No.: 2017CT181

收件日期Date Received: 2017/08/03

簽發日期Date Issued: 2017/08/17

樣品編號Sample No.: 2017CT181

樣品狀態Sample Status:

試 項 目 驗 (Item)

果 (Results)

抗菌試驗

參考「TN-002 奈米光觸媒抗菌陶瓷面磚驗證規範」之評 估標準, JM-TTA01 樣品經紫外光燈照射 24 小時後, 對 奇異變型桿菌 (Proteus mirabilis BCRC 13991) 之 抗菌率為 99.99%。 試驗內容,詳如附件。 以下空白

Authorized Representative:

#### 備註

1. 本分析結果,僅對委託者所送樣品負責。

The results in this report are valid only to the sample sent by the applicant.

2. 委託者所送樣品是否適用於人體(接觸、吸入、食用等),非本試驗之範圍。

Whether the sample sent by the applicant can be applied to human in any way (contact, inhalation, ingestion, etc.) is beyond the scope of this test.

3. 本報告所載事項,僅做參考資料,若貴公司/單位擬做為廣告、公證或商業推銷用途,應經本所同意。 This report is for reference only, if it is used for advertisement, sales promotion, or notarial use, please consult FIRDI first.

## 委託試驗報告

#### JM-TTA01 對奇異變型桿菌之抗菌試驗

#### 一、摘要

委託檢測 JM-TTA01 對奇異變型桿菌 (Proteus mirabilis BCRC 13991) 之抗菌效果。結果顯示:參考「TN-002 奈米光觸媒抗菌陶瓷面磚驗證規範」之評估標準,JM-TTA01 樣品經紫外光燈照射 24 小時後,對奇異變型桿菌 (P. mirabilis BCRC 13991) 之抗菌率為99.99%。

#### 二、背景資料

試驗編號:2017CT181 樣品名稱:JM-TTA01

檢驗方法:TN-002 奈米光觸媒抗菌陶瓷面磚驗證規範

附錄 1 奈米光觸媒抗菌陶瓷面磚抗菌功能試驗方法

照光條件: UV-A 365nm、0.2mW/cm<sup>2</sup>、24 小時

測 試 面:非打叉面

#### 三、結果與討論

經接種試驗菌株在樣品上,以紫外光燈照射 24 小時後,以培養 基測其菌數,試驗結果如表一所示。

#### 表一、樣品對奇異變型桿菌 (P. mirabilis BCRC 13991) 之抗菌情形

接種後立即洗下	明條件 24 小時後	暗條件 24 小時後	抗菌率
菌數(CFU¹/片)	菌數(CFU/片)	菌數(CFU/片)	(%)
A =	B1 =	B0 =	
$1.76 \times 10^5$	$1.96 \times 10^{6}$	$2.93 \times 10^{6}$	
		D0 =	
2	C1 =	C0 =	
	$1.50 \times 10^{1}$	$4.79 \times 10^{5}$	99.99
	菌數(CFU <sup>1</sup> /片)	菌數(CFU <sup>1</sup> /片) 菌數(CFU/片) A = B1 = 1.76 × 10 <sup>5</sup> 1.96 × 10 <sup>6</sup> C1 =	菌數(CFU <sup>1</sup> /片) 菌數(CFU/片) 菌數(CFU/片) A = B1 = B0 =  1.76 × 10 <sup>5</sup> 1.96 × 10 <sup>6</sup> 2.93 × 10 <sup>6</sup> D0 =  C1 = C0 =

'CFU: 菌落形成單位 '免填數據

#### 四、附註說明

抗菌率 =

試驗結果以抗菌率 (R%)表示,計算公式如下:

暗條件24小時菌數(C0) - 明條件24小時菌數(C1)

暗條件 24 小時菌數(C0)

×100 %

# ACTIONAL MCMUTANAL MCMUTA

## 財團法人食品工業發展研究所

#### 生物資源保存及研究中心

## Food Industry Research and Development Institute

#### Bioresource Collection and Research Center

新竹市食品路 331 號 http://www.firdi.org.tw 331, Shih-Pin Road, Hsinchu 300, Taiwan TEL:+886-3-5223191 Fax:+886-3-5224172



委託試驗報告 TEST REPORT

委託者 Applicant : JM Material Technology Inc.

報告書號碼 Report No.: 2017CT181

取 樣 者 Sampler

: JM Material Technology Inc.

收件日期 Date Received: 2017/08/03

樣品名稱SampleName: JM-TTA01

簽發日期 Date Issued: 2017/08/17

包裝型態Package Type:

樣品編號 Sample No.: 2017CT181

挑 號 Lot No. :

樣品狀態 Sample Status:

試 驗 項 目 (Item) 結果 (Results)

The antimicrobial rate (TN-002)

This test was consigned by JM Material Technology Inc. for the value of antimicrobial rate of "JM-TTA01" (the sample) on Proteus mirabilis BCRC 13991. Results showed that the antimicrobial rate of the sample on P. mirabilis BCRC 13991 was 99.99% as determined by the method TN-002.

簽 發 者:

Authorized Representative:

#### 備註

Note:

1. 本分析結果,僅對委託者所送樣品負責。

The results in this report are valid only to the sample sent by the applicant.

2. 委託者所送樣品是否適用於人體(接觸、吸入、食用等),非本試驗之範圍。

Whether the sample sent by the applicant can be applied to human in any way (contact, inhalation, ingestion, etc.) is beyond the scope of this test.

3. 本報告所載事項,僅做參考資料,若貴公司/單位擬做為廣告、公證或商業推銷用途,應經本所同意。 This report is for reference only, if it is used for advertisement, sales promotion, or notarial use, please consult FIRDI first.



#### The Antimicrobial Rate of "JM-TTA01" on Proteus mirabilis BCRC 13991

#### I. Abstract

This test was consigned by JM Material Technology Inc. for the value of antimicrobial rate of "JM-TTA01" (the sample) on *Proteus mirabilis* BCRC 13991. Results showed that the antimicrobial rate of the sample on *P. mirabilis* BCRC 13991 was 99.99% as determined by the method TN-002.

#### II. Background

Test No.: 2017CT181 Sample: JM-TTA01

Test method: TN-002 Certification specifications of nano

photocatalytic anti-bacterial ceramic tiles

Appendix 1 Test method for anti-bacteria of nano

photocatalytic anti-bacterial ceramic tiles

Test condition: UV-A 365 nm, 0.2 mW/cm<sup>2</sup>, 24 hours

Test surface: non-crossed surface

#### III. Results

Table 1 showed that after UV irradiation for 24 hours and incubation, the cells (CFU/piece) of *P. mirabilis* BCRC 13991 on the control and the sample.

Table 1. The cells (CFU/piece) of *P. mirabilis* BCRC 13991 on the control and the sample

Test	Cells (CFU <sup>1</sup> /piece) wash out after inoculation	Cells (CFU/piece) in light for 24 hr	Cells (CFU/piece) in dark for 24 hr	Antimicrobial rate (%)
Blank	$A=$ $1.76 \times 10^5$	$1.96 \times 10^6$	$2.93 \times 10^6$	
Control <sup>2</sup>			D0 =	
Sample JM-TTA01	2	$1.50 \times 10^{1}$	$4.79 \times 10^5$	99.99

<sup>1</sup>CFU: Colony Forming Unit; <sup>2</sup>No entry

\*Antimicrobial rate (%) =

## IV. Note:

The Test was showed in antimicrobioal rate. The formulation is followed.

Number of cells in dark for 24 hr (C0) - cells in light for 24 hr (C1)	170
	×100 %

Number of cells in dark for 24 hr (C0)



#### 財團法人食品工業發展研究所

#### 生物資源保存及研究中心

#### Food Industry Research and Development Institute Bioresource Collection and Research Center

新竹市食品路 331 號 http://www.firdi.org.tw

331, Shih-Pin Road, Hsinchu 300, Taiwan Fax:+886-3-5224172 TEL:+886-3-5223191



#### 委託試驗報告 TEST REPORT

委 託 者 Applicant : 京程科技股份有限公司

取樣者 Sampler : 京程科技股份有限公司

樣品名稱 Sample Name: JM-TTA01

包裝型態Package Type:非市售包裝

批 Lot No. : 報告書號碼 Report No.: 2016CT072

收件日期Date Received: 2016/03/22

簽發日期Date Issued: 2016/04/06

樣品編號Sample No.: 2016CT072

樣品狀態Sample Status:

試 驗 項 目

(Item)

結 (Results)

抗菌試驗

參考「TN-002 奈米光觸媒抗菌陶瓷面磚驗證規範」之評 估標準, JM-TTA01 樣品經紫外光燈照射 24 小時後,對 退伍軍人桿菌 (Legionella pneumophila **BCRC** 16085) 之抗菌率為大於 99.92%。 試驗內容,詳如附件。 以下空白

Authorized Representative:

#### 備註

Note:

1. 本分析結果,僅對委託者所送樣品負責。

The results in this report are valid only to the sample sent by the applicant.

2. 委託者所送樣品是否適用於人體(接觸、吸入、食用等),非本試驗之範圍。

Whether the sample sent by the applicant can be applied to human in any way (contact, inhalation, ingestion, etc.) is beyond the scope of this test.

3. 本報告所載事項,僅做參考資料,若貴公司/單位擬做為廣告、公證或商業推銷用途,應經本所同意。 This report is for reference only, if it is used for advertisement, sales promotion, or notarial use, please consult FIRDI first.



附件: 2016CT072 第 1 頁 / 全 1 頁

## 委託試驗報告

JM-TTA01 對退伍軍人桿菌 (Legionella pneumophila BCRC 16085) 之抗菌試驗

#### 一、摘要

委託檢測 JM-TTA01 對退伍軍人桿菌 (Legionella pneumophila BCRC 16085) 之抗菌效果。結果顯示:參考「TN-002 奈米光觸媒抗菌陶瓷面磚驗證規範」之評估標準,JM-TTA01 樣品經紫外光燈照射24 小時後,對退伍軍人桿菌 (L. pneumophila BCRC 16085) 之抗菌率為大於99.92%。

#### 二、背景資料

試驗編號: 2016CT072 樣品名稱: JM-TTA01

檢驗方法:TN-002 奈米光觸媒抗菌陶瓷面磚驗證規範

附錄 1 奈米光觸媒抗菌陶瓷面磚抗菌功能試驗方法

照光條件: UV-A 365nm、0.2mW/cm<sup>2</sup>、24 小時

測 試 面:非打叉面

#### 三、結果與討論

經接種試驗菌株在樣品上,以紫外光燈照射 24 小時後,以 Nutrient Agar 培養基測其菌數,試驗結果如表一所示。

#### 表一、樣品對退伍軍人桿菌 (L. pneumophila BCRC 16085) 之抗菌情形

MYON SO SE	7/20 20 30 30 AVA 1830 AR		1.60 30 30 300 300	102
試驗組別	接種後立即洗下	明條件 24 小時後	暗條件 24 小時後	抗菌率
武内奴、紅力	菌數(CFU <sup>1</sup> /片)	菌數(CFU/片)	菌數(CFU/片)	(%)
	A =	B1 =	B0 =	
空白組	$2.10 \times 10^{5}$	$4.20 \times 10^4$	$7.25 \times 10^5$	
alia (merca)			D0 =	
對照組			$1.38 \times 10^{6}$	
樣品組	2.	C1 =	C0 =	2 000
[JM-TTA01]		< 10	1.22 × 104 PM	>99.92
			'CFU: 菌落形成單位、'	<b>另填數據</b>

#### 四、附註說明

試驗結果以抗菌率 (R%)表示,計算公式如下:

抗菌率 = 暗條件24小時菌數(C0) - 明條件24小時菌數(C0)

暗條件 24 小時菌數(C0)

## 財團法人食品工業發展研究所

#### 生物資源保存及研究中心

# Food Industry Research and Development Institute

Bioresource Collection and Research Center

http://www.firdi.org.tw 新竹市食品路 331 號 331, Shih-Pin Road, Hsinchu 300, Taiwan TEL:+886-3-5223191 Fax:+886-3-5224172



#### 委託試驗報告 **TEST REPORT**

委 託 者 Applicant : 京程科技股份有限公司

取 樣 者 Sampler :京程科技股份有限公司

樣品名稱SampleName: JM-TTA01-N000

的裝型態Package Type:散裝

號 Lot No. : 批

報告書號碼 Report No.: 2015CT281

收件日期Date Received: 2015/11/16

簽發日期Date Issued: 2015/11/26

樣品編號Sample No.: 2015CT281

樣品狀態Sample Status:

(Item)

結 (Results)

抗菌試驗

參考「TN-002 奈米光觸媒抗菌陶瓷面磚驗證規範」之評 估標準, JM-TTA01-N000 樣品經紫外光燈照射 24 小時 後,對金黃色葡萄球菌之甲氧西林抗性株 (MRSA BCRC 15211) 之抗菌率為大於 99.03 %。 試驗內容,詳如附件。 以下空白

Authorized Representative

備註

1. 本分析結果,僅對委託者所送樣品負責。

The results in this report are valid only to the sample sent by the applicant.

2. 委託者所送樣品是否適用於人體(接觸、吸入、食用等),非本試驗之範圍。

Whether the sample sent by the applicant can be applied to human in any way (contact, inhalation, ingestion, etc.) is beyond the scope of this test.

3. 本報告所載事項,僅做參考資料,若貴公司/單位擬做為廣告、公證或商業推銷用途,應經本所同意。 This report is for reference only, if it is used for advertisement, sales promotion, or notarial use, please consult FIRDI first. 附件: 2015CT281 第 1 頁 / 全 1 頁

# 委託試驗報告

JM-TTA01-N000 對金黃色葡萄球菌之 甲氧西林抗性株 (MRSA BCRC 15211) 之抗菌試驗

#### 一、摘要

委託檢測 JM-TTA01-N000 對金黃色葡萄球菌之甲氧西林抗性株 (MRSA BCRC 15211) 之抗菌效果。結果顯示:參考「TN-002 奈米光 觸媒抗菌陶瓷面磚驗證規範」之評估標準,JM-TTA01-N000 樣品經 紫外光燈照射 24 小時後,對金黃色葡萄球菌之甲氧西林抗性株 (MRSA BCRC 15211) 之抗菌率為大於 99.03%。

#### 二、背景資料

試驗編號: 2015CT281

樣品名稱: JM-TTA01-N000

檢驗方法:TN-002 奈米光觸媒抗菌陶瓷面磚驗證規範

附錄 1 奈米光觸媒抗菌陶瓷面磚抗菌功能試驗方法

照光條件: UV-A 365nm、0.2mW/cm<sup>2</sup>、24 小時

測 試 面:非打叉面

#### 三、結果與討論

經接種試驗菌株在樣品上,以紫外光燈照射 24 小時後,以 Nutrient Agar 培養基測其菌數,試驗結果如表一所示。

表一、樣品對金黃色葡萄球菌之甲氧西林抗性株 (MRSA BCRC 15211) 之抗菌情形

試驗組別	接種後立即洗下	明條件 24 小時後	暗條件 24 小時後	抗菌率
部(的双、松丘刀)	菌數(CFU <sup>1</sup> /片)	菌數(CFU/片)	菌數(CFU/片)	(%)
	A =	B1 =	B0 =	
空白組	$2.37 \times 10^{5}$	$1.12 \times 10^4$	$4.40 \times 10^5$	
			D0 =	
對照組			$1.75 \times 10^{6}$	
樣品組	2	C1 =	C0 =	
[JM-TTA01-N000]		< 10	$1.03 \times 10^{3}$	> 99.03

¹CFU:菌落形成單位 ² 免填數據

#### 四、附註說明

試驗結果以抗菌率 (R%)表示,計算公式如下:

暗條件24小時菌數(C0) - 明條件24小時菌數(C1)

抗菌率 = 暗條件 24 小時菌數(C0)







山东省卫生厅认定 消毒产品检验机构 (认定日期: 2002年10月31日)

## 山东省疾病预防控制中心

# 检验报告

 检验报告编号
 鲁疾控检字2016X00156号

 检品名称
 TTA-纳米新型复合材料

 客户名称
 京程科技股份有限公司

2018年02月06日

日本名

# 山东省疾病预防控制中心检验报告

检品受理编号: 2016X00156

报告编号:

鲁疾控检字 2016X00156 号

检品名称	TTA-纳米新型复合材料	检	品	数	量	1件
客户名称	京程科技股份有限公司	检	品	性	状	
生产单位	京程科技股份有限公司	规	格	型	号	
生产日期	20160710	接	样	目	期	2016年9月28日
检品来源	送检	检验	俭完	成日	期	2018年1月12日

#### 检验结论

- 1. 所试 TTA-纳米新型复合材料制备的试验样片,室温条件下用日光灯照射作用 24h,对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌平均抗菌率均为 100%。
- 2. 所试 TTA-纳米新型复合材料制备的试验样片,室温条件下用日光灯照射作用 24h,对龟分枝杆菌平均抗菌率为 94. 98%。
- 2. 所试 TTA-纳米新型复合材料 6.25%稀释液,室温条件下用 UVA 灯源照射 1h,对所试脊髓灰质炎病毒 PV-I、肠道病毒 EV-A71、肠道病毒 CV-A16 抑制百分比均>90%。

以下空白

说明: ☆号为非认证认可项目 △号为分包项目

法定代表人(或授权的技术负责人)(签字)

神村里

检验机构

最终审核日期

2018年1月18日

未經京程科技授權請勿任意拷貝轉載 All Rights Reserved

## 山东省疾病预防控制中心检验报告

检品受理编号: 2016X00156

 检 品 名 称
 TTA-纳米新型复合材料
 接 样 日 期
 2016 年 9 月 28 日

 检 验 项 目
 细菌繁殖体抗菌试验
 检验完成日期
 2017 年 3 月 30 日

#### 一、器材

- 1. 检品名称: TTA-纳米新型复合材料, 批号 20160710。
- 2. 试验菌种: 大肠杆菌 (8099)、金黄色葡萄球菌 (ATCC6538), 由军事医学科学院 流行病微生物研究所提供,培养第8、9代。
- 3. 培养基: 胰蛋白胨大豆琼脂培养基, 压力蒸汽灭菌后备用。
- 4. 稀释液: 磷酸盐缓冲液 (PBS)。
- 5. 载体: 1cm×1cm 玻璃片, 脱脂处理后压力蒸汽灭菌备用
- 6. 仪器: 培养箱, 唯一性标识 SDCDC1903051。

#### 二、方法

- 1. 检验依据:参照 GB15979-2002《一次性使用卫生用品卫生标准》附录 C、GB/T23763-2009《光催化抗菌材料及制品抗菌性能的评价》。
- 2. 菌液制备: 将试验菌斜面培养物用 PBS 洗下,制成菌悬液。
- 3. 样片制备: 取检品原液滴染于 1cm×1cm 玻璃片载体上,37℃避光干燥制成试验样片备用; 阳性对照样片不滴染检品。
- 4. 检验步骤: 取上述菌悬液,分别在每个试验样片和阳性对照样片上滴加 20 μ L,均匀涂布,室温条件下用目光灯照射(距离 35cm)作用 24h 后,分别将试验样片和阳性对照样片投入 5mLPBS 的试管中,混匀后进行菌落计数,37℃培养 48h。同时做阴性对照。试验重复 3 次。
- 5. 检测环境: 温度 20℃。

#### 三、结果

所试 TTA-纳米新型复合材料制成的试验样片,室温条件下用日光灯照射作用 24h,对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌平均抗菌率均为 100%。

以下空白

表 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌抗菌效果

	4 × 4 × 4 × 4 × 11 × 11 × 11 × 12 × 12 ×	きまって国とこと
试验序号	大肠杆菌抗菌率(%)	金黄色葡萄球菌抗菌率(%)
1	100	100
2	100	100
3	100	100
平均值	100	100

- 注: (1) 大肠杆菌阳性对照组平均菌落数及范围 3.39×10 (1.98×10 ~4.25×10 )cfu/片。
  - (2) 金黄色葡萄球菌阳性对照组平均菌落数及范围 3.60×104(3.00×104~4.03×104)cfu/片。
  - (3) 阴性对照无菌生长。

### 四、结论

所试 TTA-纳米新型复合材料制成的试验样片,室温条件下用日光灯照射作用24h,对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌平均抗菌率均为100%。 以下空白

法定代表人(或授权的 技术负责人)(签字)

神村記

2018年1月18日

检验机构 盖章

# 山东省疾病预防控制中心检验报告

检品受理编号: 2016X00156

检品名称	TTA-纳米新型复合材料	接 样 日 期 2016 年 9 月 28 日
检验项目	☆龟分支杆菌抗菌试验	检验完成日期 2017 年 3 月 30 日

#### 一、器材

- 1. 检品名称: TTA-纳米新型复合材料, 批号 20160710。
- 2. 试验菌种: 龟分枝杆菌 (ATCC19977), 由军事医学科学院流行病微生物研究所提供。培养第 5、6 代。
- 3. 培养基: Middle Brook7H11, 按说明书配制,压力蒸汽灭菌后备用。
- 4. 稀释液: 磷酸盐缓冲液 (PBS)。
- 5. 载体: 1cm×1cm 玻璃片, 脱脂处理后压力蒸汽灭菌备用。
- 6. 仪器: 培养箱, 唯一性标识 SDCDC1903051。

#### 二、方法

- 1. 检验依据:参照 GB15979-2002 《一次性使用卫生用品卫生标准》附录 C、GB/T23763-2009 《光催化抗菌材料及制品抗菌性能的评价》。
- 2. 菌液制备: 将试验菌斜面培养物用 PBS 洗下, 制成菌悬液。
- 3. 样片制备: 取检品原液滴染于 1cm×1cm 玻璃片载体上, 放 37℃温箱中避光干燥制成试验样片备用。阳性对照样片不滴染检品。
- 4. 检验步骤: 取上述菌悬液,分别在每个试验样片和阳性对照样片上滴加 20 μ L,均匀涂布,室温条件下用日光灯照射(距离 35cm)作用 24h 后,用分别将试验样片和对照样片投入 5mLPBS 的试管中,混匀后进行菌落计数,37℃培养 7d。同时做阴性对照。试验重复 3 次。
- 5. 检测环境: 温度 20℃。

#### 三、结果

所试 TTA-纳米新型复合材料制备的试验样片,室温条件下用日光灯照射作用 24h,对 龟分枝杆菌平均抗菌率为 94.98%。

以下空白

	表 对龟分枝杆菌的抗效果	
试验序号	作用 24h 的抗菌率(%)	
1	93. 85	
2	97. 36	
3	93. 74	X Ex
平均值	94. 98	1227

注: 阳性对照组平均菌落数及范围 3.36×10<sup>4</sup>(2.83×10<sup>4</sup>~3.75×10<sup>4</sup>)cfu/片; 阴性对照无菌生长。四、结论

所试TTA-纳米新型复合材料制备的试验样片,室温条件下用日光灯照射作用24h,对 龟分枝杆菌平均抗菌率为94.98%。

以下空白

法定代表人(或授权的 技术负责人)(签字)

神村里

2018年1月18日

检验机构 盖章

# 山东省疾病预防控制中心检验报告

检品受理编号: 2016X00156

检 品 名 称 TTA-纳米新型复合材料 接 样 日 期 2016 年 9 月 28 日 检 验 项 目 ☆病毒抑制试验 检验完成日期 2017 年 10 月 30 日

### 一、器材

- 1. 检品: TTA-纳米新型复合材料, 检品批号 20160710。
- 2. 病毒名称: (1)脊髓灰质炎病毒 I 型 (poliovirus-I, PV-I) 疫苗株。(2)肠道病毒 EV-A71,编号 2015LC166R,基因型 EV-A71,基因亚型 C4a。(3)肠道病毒 CV-A16,编号 2015LC162R,基因型 CV-A16,基因亚型 B1b。
- 3. 宿主细胞: RD细胞。
- 4. 仪器: 二氧化碳培养箱 (SHEL-LAB), 唯一性标识 SDCDC1903049。
- 5. 培养基:细胞维持培养基、细胞完全培养基,小牛血清等。
- 6. 其它: 96 孔细胞培养板、细胞培养瓶、倒置显微镜等。

#### 二、方法

- 1. 检验依据:参照卫生部《消毒技术规范》(2002)2.1.1.10、委托方提供方法。
- 2. 试验方法:
  - (1)取 TTA-纳米新型复合材料 75µL,加入 5925µL MEM 制成使用液;取 500µL 使用液与 500µL 病毒悬浮液混匀作为试验组,开启两支 UVA 灯管,灯源距离测试样品 35 cm,(UV 灯管由委托方提供),室温照射 1h 后接种细胞培养板,进行终点稀释法病毒感染滴度测定(病毒 TCID50 测试)。
  - (2)取 TTA-纳米新型复合材料 75μL,加入 5925μL MEM 制成使用液;取 500μL 使用液与 500μL MEM 混匀作为检品毒性测试组,开启两支 UVA 灯管,灯源距离测试样品 35 cm, (UV 灯管由委托方提供),室温照射 1h 后接种细胞培养板,测定检品稀释液对细胞的毒性。
  - (3) 取 500μL MEM 与 500μL 病毒悬浮液混匀作为阳性对照组,接种细胞培养板,进行终点稀释法病毒感染滴度测定 (病毒 TCID<sub>50</sub> 测试);同时取 MEM 作为阴性对照组,接种细胞培养板测定阴性对照组对细胞的毒性。

各组均于 36℃、5%CO<sub>2</sub> 感染 1h, 期间每 20min 摇动混合一次。以每孔加入 MEM (+ Trypsin), 在 36℃与 5%CO<sub>2</sub> 培养至 5d, 每天观察细胞病变孔数。

以下空白

### 3. 计算:

(1) TCID50 对数值的计算

TCID<sub>50</sub> 对数值=病变率高于 50%组稀释度的对数值+距离比例 距离比例=(高于 50%组的病变率-50)/(高于 50%组的病变率-低于 50%组的 病变率)

(2) 抑制病毒百分比之计算:

抑制百分比(%)={1-10^[-(对照 Log10 TCID50-实验组 Log10 TCID50)]} × 100 三、结果

所试 TTA-纳米新型复合材料 6.25‰稀释液,室温条件下用 UVA 灯源照射 lh,对所试病毒抑制百分比均>90%。

表 病毒抑制百分比(%)结果

试验 序号	脊髓灰质炎病毒 PV-I	肠道病毒 EV-A71	
1	92. 06	95. 32	93. 24
2	91. 09	92. 06	90. 00
3	91. 68	94. 38	90.00

- 注: (1) 所试脊髓灰质炎病毒 PV-I 阳性对照 TCIDso 对数值范围是(5.33~5.50);
  - (2) 所试肠道病毒 EV-A71 阳性对照 TCIDse 对数值范围是(5.33~5.77);
  - (3) 所试肠道病毒 CV-A16 阳性对照 TCIDso 对数值范围是 (4.67~5.50);
  - (4) 检品毒性测试组、阴性对照组细胞生长良好。

### 四、结论

所试 TTA-纳米新型复合材料 6.25%稀释液,室温条件下用 UVA 灯源照射 1h,对所试脊髓灰质炎病毒 PV-I、肠道病毒 EV-A71、肠道病毒 CV-A16 抑制百分比均>90%。

以下空白

法定代表人(或授权的 技术负责人)(签字)

神村を

2018年1月18日

检验机构 盖章

# 说 明

- 一、本报告仅对送检样品负责。
- 二、本报告涂改、增删无效,未加盖单位印章无效。
- 三、送检单位对本检验报告有异议,可在收到报告之日起十五日内提出 复核申请,逾期不予受理。
- 四、本报告及本检验机构名称不得用于产品标签、广告、商品宣传和评 优。
- 五、本检验报告共四份,一份由检验机构存档,三份交送检单位。
- 六、本检验报告有效期二年。

联系地址:济南市历下区经十路16992号

邮政编码: 250014

联系电话: 0531-82679759、82679762

传真电话: 0531-82679759

网 址: 1.http://www.sdcdc.cn



# 國泰醫學中心

# 新生兒幹細胞毒性測試報告



國泰綜合醫院 10633台北市仁賽姆因原280號 Cathay General Hospital No.280, Sec. 4, Ren Ai Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

JM 奈米新型複合材料對人類新生兒皮膚纖維母細胞 之細胞毒性測試結果報告

测试试劑

JM条米新型複合材料

計畫委託

京程科技股份有限公司

計畫執行單位

醫學研究部臨床醫學研究中心細胞生物研究室

測試實驗室

醫學研究部臨床醫學研究中心細胞生物研究室

執行人員

鐘牧榉,凌慶東

計畫主持人

凌慶東

数名: 25. 次車 2014-03-06



國泰綜合醫院

10633台北市仁曼路四段280號 Cathay General Hospital No.280, Sec. 4, Ren Al Road, Taipei 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121 www.cqh.org.tw

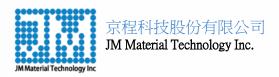
### 結論

- (1) JM 材料作用於人類新生兒皮膚纖維母細胞 24 小時,含 10% 濃度經 UV 照射之培養液,及含 5%以上濃度之 JM 材料無 UV 照射之培養液均會造成細胞毒性反應。
- (2) 含 2.5% 以下濃度 JM 材料經 UV 照射或無 UV 照射之培養液培養之細胞均未呈現毒性反應。
- (3) 細胞長期培養試驗中,含 0.625% 濃度(推估為使用濃度) JM 材料經 UV 照射或無 UV 照射之培養液培養細胞 5 日之細胞呈現細胞量減少至 60% 和 56%,顯示 JM 對人 類新生兒皮膚纖維母細胞有抑制生長和增殖的影響。

# JM奈米新型複合材料TTA對新生兒幹細胞

圖片內容未經授權,僅供內部說明使用

未呈現細胞毒性反應



# 國泰醫學中心

# 成人幹細胞毒性測試報告



國泰綜合醫院

10633台北市仁東部の総280第 Cathay General Hospital No.280, Sec. 4, Ren Al Road, Taiper 10633, Taiwan, R.O.C. Tel: 02-27082121

JM 奈米新型複合材料對人類纖維母細胞之細胞毒性 測試結果報告

测试试劑

JM奈米新型複合材料

計畫委託

京程科技股份有限公司

計書執行單位

醫學研究部臨床醫學研究中心細胞生物研究室

測試實驗室

醫學研究部臨床醫學研究中心細胞生物研究室

執行人員

鐘牧樺,凌慶東

計畫主持人

凌慶東

\*\* 25 /g t 2014-03-06



國泰綜合醫院

10633台北市仁要範围段280号 Cathay General Hospita No.280, Sec.4, Ren Ai Road Taipei 10633, Taiwan, R.O. Tel: 02-27082121 www.cgh.org.tw

### 結論

- (1) JM 材料作用於人類皮膚纖維母細胞 24 小時,含 10% 濃度經 UV 照射之培養液,及含 5%以上濃度之 JM 材料無 UV 照射之培養液均會造成細胞毒性反應。
- (2) 含 2.5% 以下濃度 JM 材料經 UV 照射或無 UV 照射之培養液培養之細胞均未呈現毒性反應。
- (3) 細胞長期毒性試驗中,含 0.625% 濃度(推估為使用濃度) JM 材料經 UV 照射或無 UV 照射之培養液培養細胞 5 日之人類皮膚纖維母細胞未呈現細胞毒性反應及對細胞 生長和增殖的影響。

# JM奈米新型複合材料TTA對成人幹細胞

圖片內容未經授權,僅供內部說明使用

京程科技版權戶

未呈現細胞毒性反應



京程科技股份有限公司 JM Material Technology Inc.

# 成大 微奈米科技研究中心

# 口服毒性報告

國立成功大學 微奈米科技研究中心 奈米技術產品測試實驗室

# 測試報告

報告日期: 2014年3月18日

報告編號: 1402-03-2

樣品名稱:奈米新型複合材料

委託項目:口服急毒性試驗

委託單位:京程科技股份有限公司

委託單位地址:桃園縣龜山鄉民生北路一段 40-2 號 5 樓-3

委託日期: 103 年2 月24 日

上項樣品經本實驗室測試,結果如內文。

本報告含封面及 11 頁內文,分離使用無效。

地址:701台南市大學路1號微奈米科技研究中心

聯絡電話: 06-2757575 #31380

E-mail: nanomark@mail.mina.ncku.edu.tw

國立成功大學 微奈米科技研究中心 奈米技術產品測試實驗室

報告編號:1402-03-2

根據本試驗結果顯示,試驗物質「奈米新型複合材料」在 5,000 mg/kg 濃度下氧 大鼠並未產生急性毒性反應。本報告說明口服急毒性 LD50 劑量為超過雌雄動物體 5.000 mg/kg 以上。

#### 五、冬者資料

- 1. 口服急毒性試驗作業指導程序書 (DWI-T-S20) , 3.0版, 2013年。
- 2. 口服急毒性試驗不確定來源分析(DRP-S12), 1.0版, 2013年。

- 本測試報告內容未經本實驗室書面同意,不得以任何方式複製,但全份複製除外

DOP-20-17 版本: 1.0

圖片內容未經授權,僅供內部說明使用奈米新型複合材料TTA經口服實驗測試

未呈現細胞毒性反應 京程科技版權所有



# JM Material Technology Inc.

# 經行政院衛福部指定檢測所

# 皮膚毒性測試報告





3) · 因此 · 根據「兔子試驗之刺激反應分類」(附件 4) 將本試驗物質歸類為 "無刺激性 ( non-irritant )" +

#### 5. 討論:

本試驗依據 TN-050 奈米抗菌塗料驗證規範進行測試。試驗時將試驗物質以貼片方式接觸免 子皮廣達 4 小時,並根據兔子皮屬所顯現的局部刺激反應判定試驗物質是否有使用安全方面之疑 庫·本次試驗結果顯示·兔子皮膚經接觸試驗物質後 72 小時內並無出現任何刺激反應。 因此, 「奈米新型複合材料 Nanocomposite Material」於本試驗之設計條件下,對於紐西蘭大白兔之 皮膚並無刺激性 (non-irritant)。

- 6.1 行政院衛生署:藥物非臨床試驗優良操作規範(Good Laboratory Practice for Nonclinical Studies) · 2006 · 台灣 ·
- 6.2 TN-050: 奈米抗菌塗料驗證規範 1.0 版·2013·台灣·
- 6.3 Chinese National Standards (CNS). Biological evaluation of medical devices Part 10: tests for irritation and sensitization. CNS 14393-10, 2005. Taiwan, R.O.C.
- 6.4 Food and Drug Administration (FDA). Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies. 21 CFR, Part 58, 1987. U.S.A.
- 6.5 International Organization for Standardization (ISO). Biological evaluation of medical devices - part 10: Tests for irritation and skin sensitization. ISO 10993-10, 2010, 3rd
- 6.6 Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). OECD guideline for the testing of chemicals. Acute Dermal Irritation/Corrosion. OECD 404, 2002.
- 6.7 United States Environmental Protection Agency (EPA). Health effects test guidelines. Acute dermal irritation, OPPTS 870,2500, 1998, U.S.A.

委託單位:京程科技股份有限公司(報告議號:M62-140200017001)

□ 初步報告

■ 滚板架告 第7頁 共16頁

依據TN-050規範驗證,經72hr測試,JM奈米新型複合材

圖片內容未經授料工作內對皮膚無任何刺激反應

# 國疾病預防控制中心 皮膚及口服毒性測試

中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所

### 检测报告

报告编号: 2014KF0460

第レ页/共乙页

#### 二、试验结果

受试物对家兔多次皮肤刺激性试验结果

			皮肤刺激	性反应积	53	26	
涂抹大数	动物数(只)		样品			对照	
		红斑	水肿	总分	红斑	水肿	总分
1	4	0	0	0	0	0	0
2	4	0	0	0	0	0	0
3	4	0	0	0	0	0	0
4	4	0	0	0	0	0	0
5	4	0	0	0	0	0	0
6	4	0	0	0	0	0	0
7	4	0	0	0	0	0	0
8	4	0	0	0	0	0	0
9	4	0	0	0	0	0	0
10	4	0	0	0	0	0	0
11	4	0	0	0	0	0	0
12	4	0	0	0	0	0	0
13	4	0	0	0	0	0	0
14	4	0	0	0	0	0	0
14 天每只	动物积分均值		0			0	
每天每只	动物积分均值		0			0	

受试物对家兔多次皮肤刺激性为无刺激性。

三、结论: 受试物多次接触动物未引起皮肤刺激反应, 其最高总积分均值为 0., 按 皮肤刺激强度分级标准, 该受试物属于无刺激性。

附注: /

法定代表人(或授权签字人):

圖片內容未經授權,僅供內部說明使用

中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所

## 检测报告

第2個「夫と文

1000000			10.8	200.00
L. URME	21	1位口存在10000	SE.	
ts 101	無策分割 (mg/kg)	現物数 (尺)	月にくらわ物類 (5L)	(5)
	1000	ä		0
	3150	. 5		.0
- 4	49.60	. 5		- 0
	10000	. 5		.0
	1000	5	4	. 0
	2150	5	4	. 0
4	4540	. 5	- 4	D
	10000	5	4	- 0

三、传统

接货编号, 2014年90年

金石石。动物均未包藏中造结数。该是试物对小户菜醇、单牲经口 LDu 均大于 5000mg/kg 休息。属于实际无动物。

MHE /

# JM奈米新型複合材料TTA 通過皮膚無毒及口服毒性測試



JM Material Technology Inc.

# 中國國家建築材料測試中心

## M 国家建筑材料测试中心

search Center of Testing Techniques for Building Materials)

2015000586F

检验报告

中心编号: WT2016B01N02708

第1页共2页

电话: 65728538 邮编: 100024

□心编号: <u>\</u>	V12016B01N02708	-	717 727
样品名称	纳米新型复合材料	检验类别	委托检验
委托单位	山东乾祥环保科技股份有限公司	商标	乾祥
生产单位	京程科技股份有限公司	样品状态	样品完好
来样日期	2016年07月15日	样品数量	32 片
生产日期 /批号		型号规格	JM-TTA01
检验依据	JC/T 897-2002《抗菌陶瓷制品抗菌	性能》附录A	
检验项目	抗菌率 (金黄色葡萄球菌)		
检验结论	*经检验,送检样品抗菌率(全 准 JC/T 897-2002 的技术要求。检		* 6年08月05日
附注:(此处	空白)	检验	位专用早

检验单位地址:北京市朝阳区管庄中国建材院南楼

### 国家建筑材料测试中心

(National Research Center of Testing Techniques for Building Materials)

检验报告

(Test Report)

中心编号: WT2016B01N02708

第2页 共2页

P心编·	号: <u>WT2016B01N02708</u>		<b>A</b>	Z Д <del>Д Z</del> Д
序号	检验项目	标准要求	检验结果	单项结论
1	金黄色葡萄球菌抗菌率	≥90	99.4	符合
	TA抗菌建材符 技材料測試中心			建
备注	: (此处空白)			

检验单位地址: 北京市朝阳区管庄中国建材院南楼 电话: 65728538 邮编: 100024

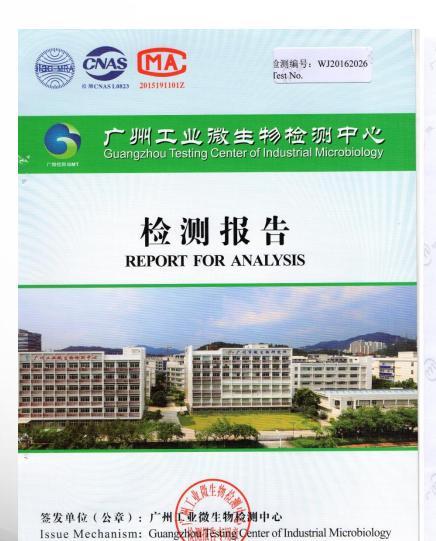
中国建材检验认证集团

中国建材检验认证集团

京程科技股份有限公司

JM Material Technology Inc.

# 廣州工業微生物檢測中心







检测编号: WJ20162026 Test No.

广州工业微生物检测中心

GUANGZHOU TESTING CENTER OF INDUSTRIAL MICROBIOLOGY 检测报告

REPORT FOR ANALYSIS 收样日期: 2016年7月13日 检测日期: 2016年7月19日 Date Received Date Analyzed 样品名称 样品来源 纳米新型复合材料 Name of Sample Source of Sample 委托单位 委托人 山东乾祥环保科技股份有限公司 张劭 Applicant Client 生产单位 样品等级 京程科技股份有限公司 Manufacturer Sample grade 型号规格 商标 JM-TTA01 乾祥 Type and Specification Brand 生产日期和批号 样品数量 Date and Batch 1份 Quantity of Sample Number of Production 样品状态 样品包装 散装 State of Sample Packing of Sample 检验依据和方法 GB/T 21866-2008 抗菌涂料(漆膜)抗菌性能测定法和抗菌效果 Standard and Methods 检测项目 抗菌测试(金黄色葡萄球菌 ATCC 6538) Items of Analysis 备注 Remarks 检测结果: Test Results 24h 后空白样菌 24h 后试验样 24h 后阴性 抗菌率 作用 样品编号 试验荫种 对照样菌落数 落数 菌落数 时间 (%) (cfu/片) (cfu/片) (cfu/片) 金黄色 24h 1.66×107 WJ20162026-1 >99.99 葡萄球菌

以下空白 Blank Below

中國廣州微生物檢測中心檢測,針對金黃色葡萄球

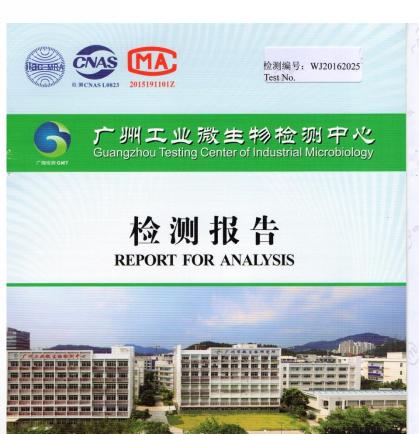
菌TTA達抗菌率99%

編制: ま 反 Editor



签发日期(公章),为0万年 Date Reported

# 廣州工業微生物檢測中心



签发单位(公章):广州工业微生物检测中心

Issue Mechanism: Guangahou Testing Center of Industrial Microbiology







Test No.

广州工业微生物检测中心

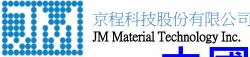
GUANGZHOU TESTING CENTER OF INDUSTRIAL MICROBIOLOGY 检测报告

女样日期: 2016 年 7 月 Date Received 样品名称	纳米新型复合材料	P	Date A 样品来源	期: 2016年7 nalyzed 送样	7 19 11
Name of Sample	NI/WE X LIVE		Source of Sample	~11	,
委托单位 Applicant	山东乾祥环保科技股份	有限公司	委托人 Client	张劭	
生产单位 Manufacturer	京程科技股份有限公司	(C)	样品等级 Sample grade	man and and and and and and and and and a	
型号规格 Type and Specification	JM-TTA01	200	商标 Brand	乾祥	Q#
生产日期和批号 Date and Batch Number of Production	NA O		样品数量 Quantity of Sample	1份 5	0
样品状态 State of Sample	固体	Altr.	样品包装 Packing of Sample	散装	
检验依据和方法 Standard and Methods	GB/T 21866-2008 抗菌	菌涂料(漆膜)抗菌	性能測定法和抗菌交	<b></b>	
检测项目 Items of Analysis	抗菌测试(大肠杆菌 AT	CC 8739)		24	
备注 Remarks	<del>200</del>		24	10	
金测结果: Test Results	70	- 30	9		60
样品编号	作用 试验菌种时间	24h 后阴性 对照样菌落数 (cfu/片)	24h 后空白样菌 2 落数 (cfw/片)	24h 后试验样 菌落数 (cfu/片)	抗菌率 (%)
WJ20162025-1	24h 大肠杆菌	2.02×10 <sup>7</sup>	1.52×10 <sup>7</sup>	<1000	>99.99

中國廣州微生物檢測中心



第1页,共1页



# 中國科學院理化技術研究中心





### 中国科学院理化技术研究所抗菌材料检测中心

Test Center of Antimicrobial Materials
Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Sciences

# 检测报告

Test

Report

报 告 编 号: LHKJ-1607-28-1/1 Report Number

样 品 Sample	名 称* Name _	纳米新型复合材料
	单位* Clients _	山东乾祥环保科技股份有限公司
检 测 Test	类别 Sort _	委托检测
报 告 Date of	日 期 Report	2016年07月18日

地址: 北京市海淀区中关村东路 29 号理化所 38 信箱 邮 编: 100190 电话: (010) 82543775 网 址: www.ipc.ac.cn 传真: (010) 82543776 电子信箱: lhjc@mail.jpc.ac.cn

### 中国科学院理化技术研究所抗菌材料检测中心

报告编号: LHKJ-1607-28-1/1

共1页 第1页

纳米新型复合材料	检测类别	委托检测
L16221	####.	山东乾祥环保科技股份有限公
16片	一 安比里位*	司
JM-TTA01	3	青岛市李沧区九水东路 320 号;
乾祥	14:11111111111111111111111111111111111	266100
1	收检日期	2016-07-13
<b> </b>	检测日期	2016-07-13~2016-07-15
<b>永生行及放仍有限公司</b>	检测项目	抗菌活性值、抗菌率
	L16221 16 片 JM-TTA01	L16221     委托单位*       16 片     英托单位*       JM-TTA01     详细地址*       **     收检日期       京程科技股份有限公司     检测日期

样品说明: 送检样品为纳米新型复合材料(已涂在玻璃上制成样片); 对照样品为标准 PE。 按标准规定,将对照样裁制成50mm×50mm 大小的样片。

检测依据: JIS Z 2801:2012 《抗菌制品抗菌性能的检测与评价》

检测用菌: 金黄色葡萄球菌 (Staphylococcus aureus) ATCC 6538

检测处里.

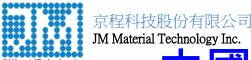
项目		金黄色	葡萄球菌		
/	平均活菌数	平均活菌数 (CFU/cm²)		抗菌率	
样品	0 时间	24 小时	(R)	(%)	
对照样	6.8×10 <sup>3</sup>	8.0×10 <sup>5</sup>			
送检样		<1.3	>5.8	>99	

#### 注意事项:

- 1、报告无"检测专用章"无效。
- 2、报告无主检,审核,批准人签字无效。
- 3、未经检测中心书面批准,不得复制报告(全文复制除外)。
- 4、委托检测只对送检样品负责。
- 5、对检测报告若有异议。请于此到报告之日起一个日内向木检测由
- 6、检测报告中带\*号项内容由委托方提供,本中心不负责确认。 🔀 🥎 🔾 🔾

盖章
2016年07月18日

圖



# 中國科學院理化技術研究中心





### 中国科学院理化技术研究所抗菌材料检测中心

Test Center of Antimicrobial Materials Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Sciences

Test

Report

报 告 编 号: LHKJ-1607-27-1/1 Report Number

样	品	名	称*	纳米新型复合材料
---	---	---	----	----------

位 \* 山东乾祥环保科技股份有限公司

2016年07月18日

Date of Report

地址: 北京市海淀区中关村东路 29 号理化所 38 信箱

电话: (010) 82543775 传真: (010) 82543776

址: www.ipc.ac.cn

电子信箱: lhjc@mail.ipc.ac.cn

### 中国科学院理化技术研究所抗菌材料检测中心

报告编号: LHKJ-1607-27-1/1

共1页 第1页

样品名称*	纳米新型复合材料	检测类别	委托检测	
样品编号 样品数量	L16221 16 片	—— 委托单位 *	山东乾祥环保科技股份有限司	
规格型号 * 商 标 *	JM-TTA01 乾祥	 详细地址 *	青岛市李沧区九水东路 320 号; 266100	
出厂批号*	1	收检日期	2016-07-13	
制造厂商*	京程科技股份有限公司	检测日期	2016-07-13~2016-07-15	
	WATHER WANTER	检测项目	抗菌活性值、抗菌率	

样品说明:送检样品为纳米新型复合材料(已涂在玻璃上制成样片);对照样品为标准 PE。 按标准规定,将对照样裁制成50mm×50mm大小的样片。

检测依据: JIS Z 2801:2012 《抗菌制品抗菌性能的检测与评价》

检测用菌: 大肠杆菌 (Escherichia coli) ATCC 25922

检测结果.

项目	大肠杆菌						
	平均活菌数	(CFU/cm <sup>2</sup> )	抗菌活性值 (R)	抗菌率 (%)			
样品	0 时间	24 小时					
对照样	8.6×10 <sup>3</sup>	1.6×10 <sup>6</sup>	-				
送检样		<1.3	>6.1	<sub>II</sub> >99			

#### 注意事项:

- 1、报告无"检测专用章"无效。
- 2、报告无主检, 审核, 批准人签字无效。
- 3、未经检测中心书面批准,不得复制报告(全文复制除外)。
- 5、对检测报告若有异议,请于收到报告之日起一个月内向本检
- 6、检测报告中带\*号项内容由委托方提供,本中心不负责确认。

(授权签字人)



# **Contacts**



www.rise-lighting.com rise@rise-lighting.com.tw

## 總公司

新北市新莊區五權一路7-3號

郵編:24892

聯絡電話:886-2-2290-0607

傳真:886-2-2299-0615

台灣市場業務部:

02-2290-0766/02-2298-1688

### **Head Office**

No.7-3, Wu Chuan 1st Rd., Hsian

Chuang Dist., New Taipei City, Taiwan, R.O.C.

Post Code: 24892

TEL: 886-2-2290-0607 /

TEL: 886-2-2290-0355 FAX: 886-2-2299-0615 /

FAX: 886-2-2299-2008

Marketing Dept.:

02-2290-0766/02-2298-1688

## 廣東珠海廠

珠海市金灣區紅旗鎮金荷路591號

郵編:519090

聯絡電話: 86-756-3986688 ext 838

傳真: 86-756-3997799 聯絡人: 余淑慧(Amanda)

中國: +86-1866-696-2512

聯絡人: 藍家田

中國: +86-1391-011-5032

## **Guangdong Zhuhai Factory**

No.591, Jinhe Rd., Hongqi Town, Jinwan Dist., Zhuhai City, Guangdong, China

Post Code: 519090

TEL: 86-756-3986688 Ext. 838

FAX: 86-756-3997799 Contact: Ms. Amanda Yu

China Mobile: +86-1866.696.2512

Contact: Ms. Lan, Jiatian

China Mobile: +86-1391-011-5032

### 北京辦事處

北京市朝陽區來廣營 廣順北大街五號B235

(地鐵來廣營站) 郵編:100025

連絡電話:86-10-5842-5511 傳真:86-10-5862-4399

### **Beijing Office**

Room B235.

No.5 Guangshun N. St. Chaoyang Dist., Beijing, China (Subway: Laiguangying Station)

Post Code: 100102 TEL: 86-10-5842-5511 FAX: 86-10-5862-4399