



ХҮНС, ХӨДӨӨ АЖ АХУЙ,
ХӨНГӨН ҮЙЛДВЭРИЙН ЯАМ



МАА-Н ЭДИЙН ЗАСГИЙН
ЭРГЭЛТИЙГ НЭМЭГДҮҮЛЭХ
ТӨСӨЛ



THE WORLD BANK
IBRD • IDA | WORLD BANK GROUP



“ГАРААНЫ ПРАЙМЕР ХХК”

“Нэг эрүүл мэндийн үйлчилгээ -
Түргэн тест ба PCR цомгийн туршилт”

Development diagnostic technology on the Food Safety



Practical importance of the diagnostic technology



Гарааны Праймер ХХК

Хаяг: УБ, ХУД, Зайсан 17024,

Утас: 77118805, 99194028

Website: www.primers.mn

E mail: info@primers.mn

Facebook: Startup Primer

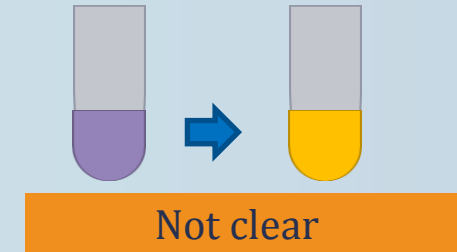
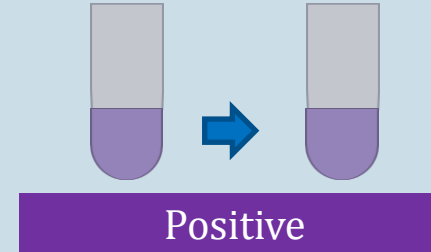
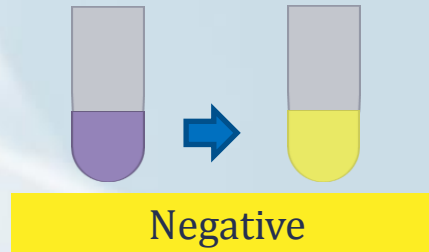
Махан дахь антибиотикийн үлдэгдэл тодорхойлох түргэн тест хөгжүүлэлт



Proposed innovation project

Develop test for antibiotic residue in meat and milk

antibiotic residue test



Develop a test to replace the imported Premium test by testing and developing an antibiotic residue test



The price of an imported premium test is MNT **17,800** per sample, which is too expensive for the initial test



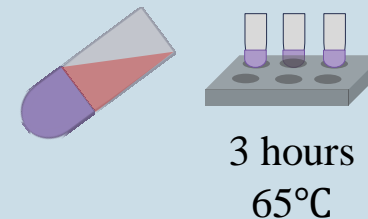
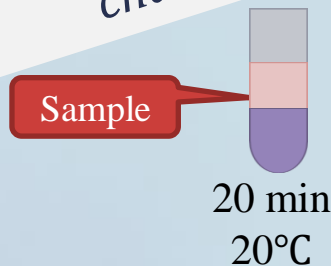
The antibiotic residue test, which we are developing, can be done for **8000-9000** MNT per test.

- It takes 3.5 - 4 hours per test
- It is very easy to use and easy methodology
- It can be used anywhere

On-site

Cheap

Attempts are being made to develop a color change detection test.



Similar imported tests are very expensive and have a short life time



Танилцуулга

- ✓ Маханд агуулагдах антибиотикийн үлдэгдэл нь хэрэглэгчдийн эрүүл мэндэд хортой нөлөө үзүүлдэг тул нийгмийн эрүүл мэндийн ноцтой асуудал юм. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5745477/>
- ✓ Энэхүү түргэн тестийн арга нь махан дахь антибиотикийн үлдэгдлийг богино хугацаанд илрүүлэхэд зориулагдсан чанарын шинжилгээний арга юм.
- ✓ Халуунд тэсвэртэй *Geobacillus stearothermophilus* бактер ихэнх антибиотик болон хүхрийн нэгдлүүдэд мэдрэг байдаг. Иймд антибиотик уг бактерийн өсөлтийг дарангуйлдаг.

Тестийн зарчим

- ✓ *Geobacillus stearothermophilus* бактерийн стандарт тооны спорыг тэжээлт орчин (агар, рН индикатор буюу phenol red агуулсан)-д урьдчилан суулгасан байна. Түүний дээр махны шүүсийг буюу сорьцийг нэмж, 65°C-д халаан дээжинд антибиотикийн үлдэгдэл байгаа эсэхийг тодорхойлно. Тэжээлт орчны найрлаганд орсон Phenol red индикатор бодис нь хүчиллэг орчинд **шар**, саармаг орчинд улаан эсвэл улбар шар, шүлтлэг орчинд **ягаан** өнгө үүсгэдэг.
- ✓ Хэрэв бактерийн өсөлтийг дарангуйлах бодис буюу антибиотик байхгүй тохиолдолд нахиалсан споруудаас бактериуд үржин олширч хүчлүүд үүсгэдэг. Хүчлийн нөлөөгөөр рН индикатор бодисын өнгө өөрчлөгдсөнөөс тэжээлт орчны өнгө хөх ягаанаас **шар** өнгөтэй болно.
- ✓ Антибиотик хангалттай хэмжээгээр буюу илрүүлэх доод хязгаараас давсан тохиолдолд спорууд нахиалж үржиж чадахгүй тул тэжээлт орчны өнгө өөрчлөгдөхгүй.

Түргэн тест хөгжүүлэлт, үйлдвэрлэл

Бэлтгэл

1.Тэжээлт орчин бэлтгэх

1.Бактер өсгөвөрлөх

1.Спор бэлтгэх

1.Тестийн ампул бэлтгэх

1.Тестийн урьдчилсан арга зүй боловсруулах

Туршилт

1.Спорын стандарт тоог тодорхойлох туршилт

1.Антибиотикийн үлдэгдэл илрүүлэх доод хязгаарыг тодорхойлох туршилт

1.Тестийн хадгалах нөхцөл, хугацааг тодорхойлох туршилт

Фармакопейн өгүүлэл

1.Фармакопейн өгүүлэл бичих

1.Үйлдвэрлэлийн шат

1.Тестийн ампул савлалт, хадгалалт

Бэлтгэл шат

Хэрэглэгдэхүүн (Урвалж бодис)

	Урвалж бодисын нэр		Хэмжээ	Үйлдвэрлэгч	Тэмдэглэл
1	Tryptic soy agar (TSA)	Agar	15.0 g/l	Millipore	https://www.sigmaaldrich.com/MN/en/product/sial/22091
2		Casein peptone	15.0 g/l		
3		Soy peptone	5.0 g/l		
4		NaCl	5.0 g/l		
5		Lactose	100 g/l		
6	pH indicator	Phenol red/ Bromcresol purple	18 mg/l 16 mg/l	Sigma Aldrich	https://www.sigmaaldrich.com/MN/en/product/sial/p3532 https://www.sigmaaldrich.com/MN/en/product/sial/114375
7	Нэрмэл ус		1 l		
8	<i>Geobacillus stearothermophilus</i> спор		5 ⁷ -5 ⁸ CFU/mL 10 ⁹ CFU/mL	Microbiologics АНУ	https://www.microbiologics.com/0872C

74041 ▶ Sigma-Aldrich®

Sterility Indicator (Steam Sterilization)

★★★★★ (0) [Write a review](#)

suitable for microbiology

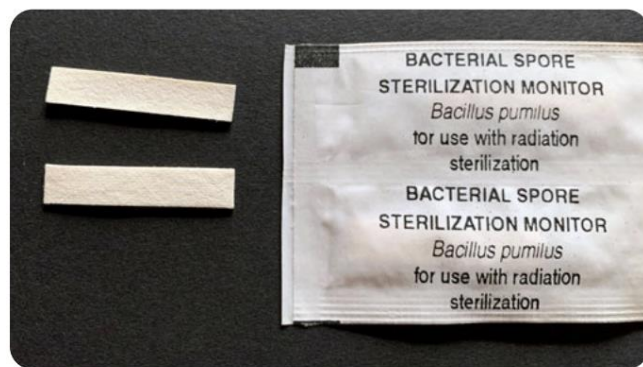
Synonym(s):

Spore Strips (for Steam Sterilization), Spore Strips Bioindicator (for Steam Sterilization)

NACRES: NB.35

SKU	Pack Size	Availability
74041-25TESTS-F	25 STRIPS	✔ Estimated to ship on May 19, 2023

https://www.sigmaaldrich.com/MN/en/product/sial/74041?gclid=CjwKCAjwiOCgBhAgEiwAjv5whBaz0ifdmE03qMicDNQUhEMww4x4PSKYbphmFpXx3VK8oBxu18JYARoC71EQAvD_BwE&gclidsrc=aw.ds



Sterility Indicator

PROPERTIES

shelf life	limited shelf life, expiry date on the label
application(s)	food and beverages microbiology
storage temp.	2-8°C

DESCRIPTION

General description

These indicators consist of *Bacillus stearothermophilus* (ATCC 7953) spores impregnated on paper strips, individually placed into envelopes. *Bacillus stearothermophilus* is a thermophilic species which can grow at 65°C and above. The spores are highly resistant and are used to monitor autoclave performance. These indicators as specified by U.S. military specification MIL-S-36586 are GMP requirements of U.S. FDA.

Packaging

25 strips

package of 25 strips

Dimension envelop (2 strips): 46x70 mm

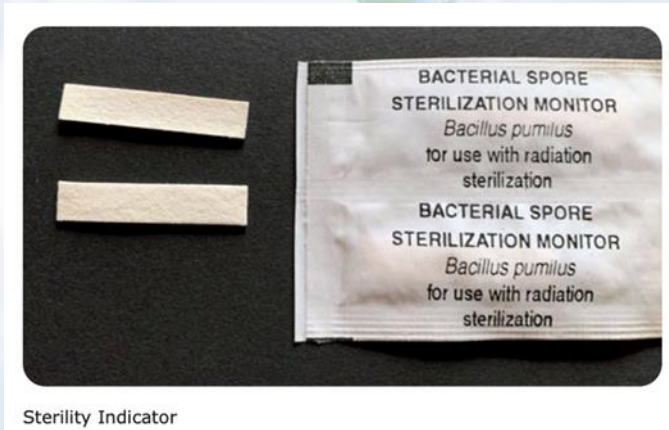
Dimension strips: 33x7 mm

Components

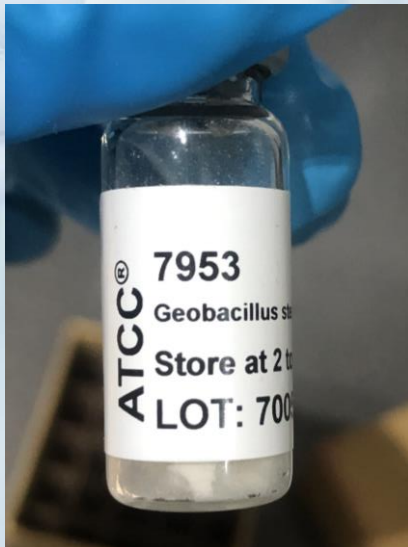
Bacillus stearothermophilus (ATCC 7953) spores impregnated on paper strips (1 mio. spores per strip)

Антибиотикийн үлдэгдэл илрүүлэх түргэн тестийн цомогт агуулагдах зүйлс

Geobacillus stearothermophilus бактер



Sterility Indicator



	Урвалж бодисын нэр	
1	Tryptic soy agar (TSA)	Agar
2		Casein peptone
3		Soy peptone
4		NaCl
5		Lactose
6	pH indicator	Phenol red
7	Нэрмэл ус	
8	<i>Geobacillus stearothermophilus</i> бактерийн спор	

Хэрэглэгдэхүүн (Багаж)

	Багаж, хэрэглэгдэхүүний нэр	Тоо ширхэг	Үйлдвэрлэгч	Тэмдэглэл
1	Махны шүүс шахагч	1	Kitchen Aid	https://www.amazon.com/KitchenAid-Classic-Garlic-7-68-Inch-Cobalt/dp/B08N2RDBHT/ref=sr_1_1?c=ts&keywords=Garlic%2BPresses&qid=1679972521&s=kitchen&sr=1-1&ts_id=678518011&th=1
2	Халаагуур (Dry bath incubator, 64°C)	1	Benchmark Scientific	https://www.sigmaaldrich.com/MN/en/product/aldrich/z680001
3	Пипетка, хошуу (100-1000 мкл)			
4	Цодон (2 ml)	1	Sigma Aldrich	https://www.sigmaaldrich.com/MN/en/product/sigma/i7523
5	Вакумдан савлагч	1	Food saver	https://www.amazon.com/FoodSaver-Automatic-Machine-Express-Certified/dp/B01MDRSCVF/ref=sr_1_7?c=ts&keywords=Vacuum%2BSealers&qid=1679494926&s=kitchen&sr=1-7&ts_id=1090768&th=1
6	Лабораторын шил сав (колбо, хэмжээст цилиндр)			
7	Автоклав	1		

1. Тэжээлт орчин бэлтгэх

1-р шат (TSB бэлтгэх)

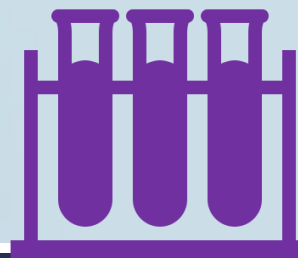
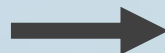
	Урвалж бодисын нэр	Хэмжээ
1	TSB ✓ Casein (pancreatic digest) 17 g/L ✓ Soya peptone (papain digest) 3 g/L ✓ Sodium chloride 5 g/L ✓ Dipotassium phosphate 2.5 g/L ✓ Dextrose 2.5 g/L	30g
2	Нэрмэл ус	1 l

2-р шат (TSA бэлтгэх)

	Урвалж бодисын нэр	Хэмжээ	
1	Tryptic soy agar (TSA)	Agar	15.0 g/l
2		Casein peptone	15.0 g/l
3		Soy peptone	5.0 g/l
4		NaCl	5.0 g/l
5	Lactose	100 g/l	
6	pH indicator	Phenol red	18 mg/l
7	Нэрмэл ус	1 l	



Автоклав
121°C-д 15 минут

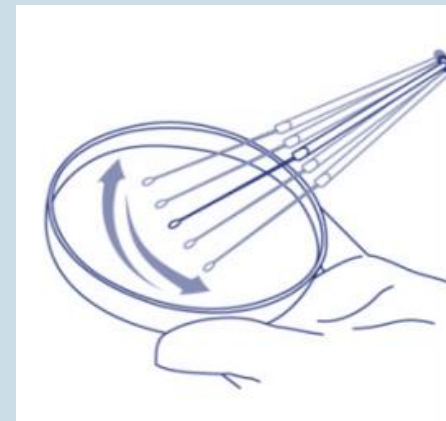


pH 7.4 (25 °C)

2. Бактери өсгөвөрлөх

1-р шат (спороос бактер өсгөвөрлөх)

- ❑ Tryptic soy broth (TSB)
 - 55 - 60 °C (65 °C)
 - 24 - 48 цаг (7 хоног)
- ❑ Бактери тодорхойлох
 - Бактери будах (Грамын будаг)
 - PCR



2-р шат (бактер өсгөвөрлөх)

- ❑ Tryptic soy agar (TSA)
 - 55 - 60 °C (65 °C)
 - 24 - 48 цаг
- ❑ CFU ТОГТООХ

3. Спор үүсгэх

1-р шат (Спор үүсгэх)

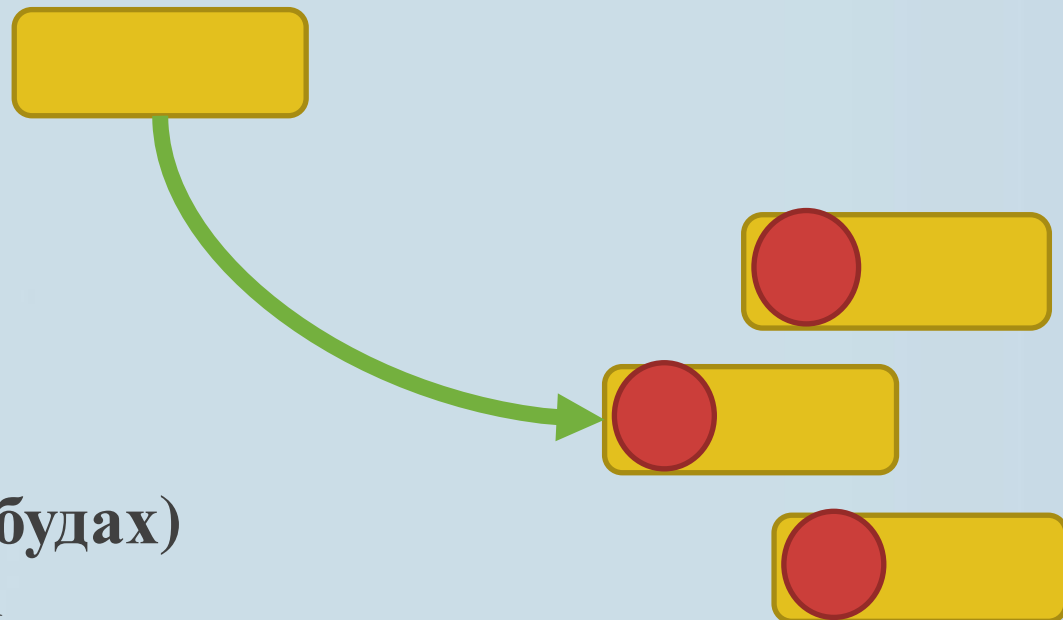
- Хэт ягаан туяагаар 2-10 минут үйлчлэх
- 80 - 100°C-д 10-20 минут буцалгах
- Sporulation medium (6 өдөр, 62 °C)

2-р шат (Спор будах)

- Түрхэц бэлтгэх
- Будах (Малахит ногоон, Сафранин)
- Микроскоп

3-р шат (спор хадгалах)

- Хурилдуурдах (4 удаа, 1935 × g/ 30 мин)
- Спорын суспенз бэлтгэх (0.02 M calcium acetate, pH 9.7)
- Хадгалах (4 °C, удаан хугацаагаар)



4. Тестийн ампул бэлтгэх

	Урвалж бодисын нэр	Хэмжээ
1	Tryptic soy agar (TSA)	Agar 15.0 g/l
2		Casein peptone 15.0 g/l
3		Soy peptone 5.0 g/l
4		NaCl 5.0 g/l
		Lactose 100 g/l
5		Glycerine
6	pH indicator Phenol red/ Bromcresol purple	18 mg/l 16 mg/l
7	Нэрмэл ус	1 l
8	<i>Geobacillus stearothermophilus</i> спор	5^7 - 5^8 CFU/mL 10^9 CFU/mL



5. Тестийн урьдчилсан арга зүй

1-р шат (дээж бэлтгэл)

- Дээж авах: 100 гр махны дээж авч, зохих шошготой ариутгасан полиэтилен уутанд хийж, бүрэн асептик нөхцөлд мөстэй хайрцагт тээвэрлэн, лабораторид хүргэнэ.
 - Дээж хадгалах: дээжийг хөргүүрт хадгалан 24 цагийн дотор шинжилгээг хийнэ.
 - Махны шүүс шахах: махыг шүүс шахагчаар шахаж, шүүс гаргана.
- *Хөлдүү махны гэсгээсний дараах шүүсийг ашиглаж болно.

2-р шат (урвал тавих)

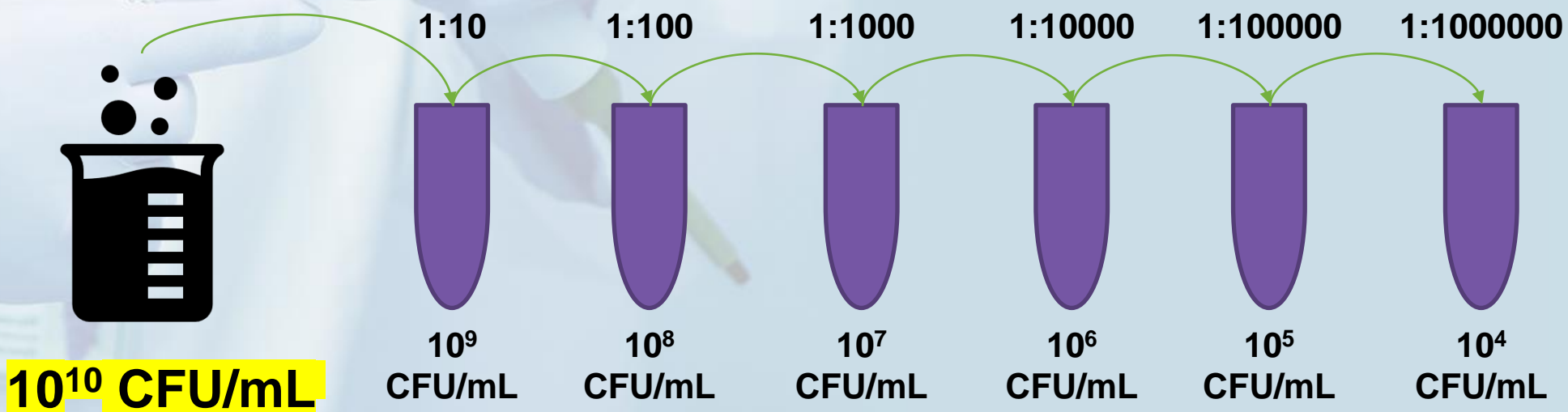
- Ампултай тэжээлт орчин дээр махны шүүс нэмэх
- Тасалгаанд 20 минут тавьж махны шүүсийг тэжээлт орчинд шингээх
- Ампул доторхийг нэрмэл усаар 2 удаа зайлж, махны үлдэгдлийг арилгаад таглах
- Ампулаа 65°C –д тохируулсан халаагуурт 3 цаг тавих

3-р шат (үр дүнг үнэлэх)

- Ампулыг халаагуураас гаргаад өнгийг үнэлэх
- Бактерийн өсөлт явагдсан бол тэжээлт орчин **шар** өнгөтэй болно. Энэ нь антибиотикийн үлдэгдэл илрүүлэх хязгаараас бага байгааг илэрхийлнэ.
- Бактерийн өсөлт явагдаагүй бол тэжээлт орчин **хөх ягаан** өнгөтэй хэвээрээ байна. Энэ нь антибиотикийн үлдэгдэл илрүүлэх хязгаараас их байгааг илэрхийлнэ.

1. Спорын стандарт тоог тодорхойлох

- 5^7 - 5^8 CFU/mL
- 10^9 CFU/mL



Тест хөгжүүлэлтийн ЯВЦ

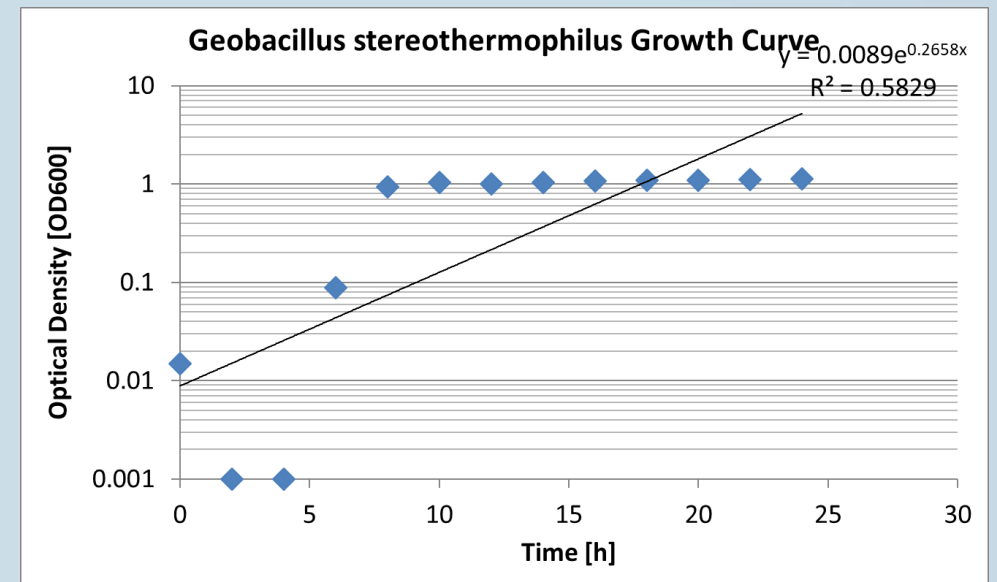
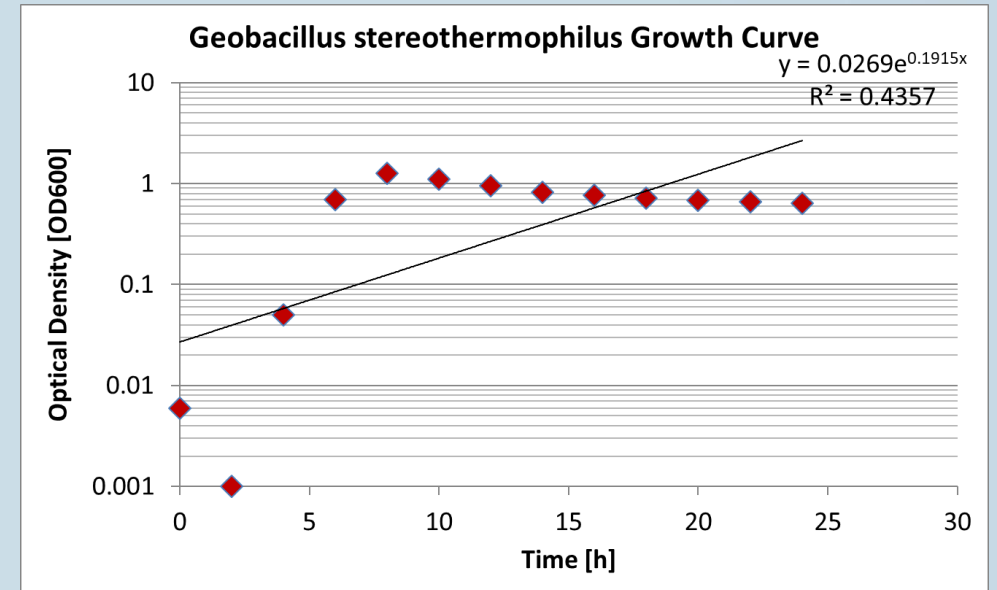
1.Тэжээлт орчин бэлтгэх

1.Бактер өсгөвөрлөх, тодорхойлох

CFU/mL стандарт муруй
байгуулах

1.Спор бэлтгэх

1.Тестийн ампул бэлтгэх



Тест хөгжүүлэлтийн явц

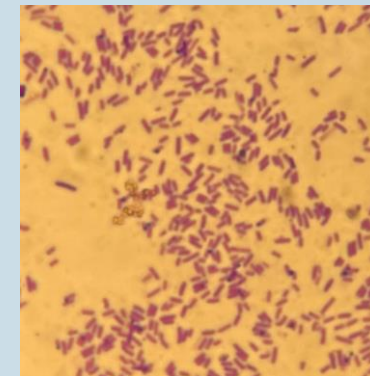
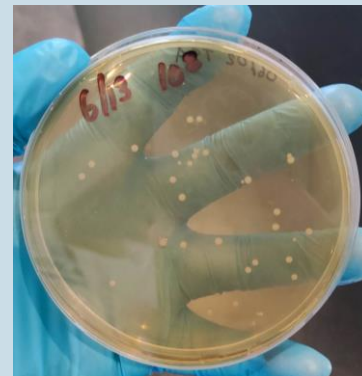
1.Тэжээлт орчин бэлтгэх

2.Бактер өсгөвөрлөх, тодорхойлох

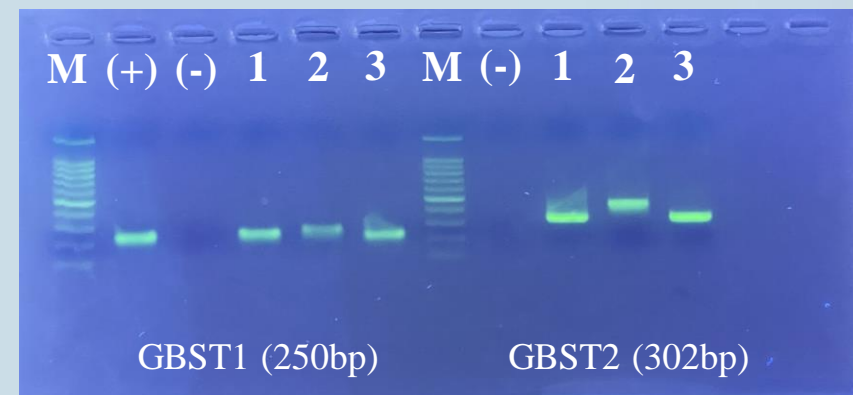
3.CFU/mL стандарт муруй байгуулах

4.Спор бэлтгэх

5.Тестийн ампул бэлтгэх



Geobacillus stereothermophilus ATCC7953 culture



M - 100 bp DNA ladder

1 – TSB шөлөнд баяжуулсан бактериас ялгасан ДНХ

2, 3 – TSA дээр өсгөвөрлөсөн бактерийн колониос ялгасан ДНХ

(+) Эерэг хяналт

(-) Сөрөг хяналт

2. Антибиотикийн үлдэгдэл илрүүлэх доод хязгаарыг (LOD) тодорхойлох

- Penicillin G 6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb)
- Amoxicillin 11 $\mu\text{g}/\text{kg}$
- Cloxacillin 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$
- Chlortetracycline 160 $\mu\text{g}/\text{kg}$
- Oxytetracycline 160 $\mu\text{g}/\text{kg}$
- Doxycycline 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$
- Sulfadimethoxine 75 $\mu\text{g}/\text{kg}$
- Sulfadiazine 90 $\mu\text{g}/\text{kg}$
- Erythromycine A 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$
- Tylosine A 90 $\mu\text{g}/\text{kg}$

3. Тестийн хадгалах нөхцөл, хугацааг тодорхойлох

Тестийн ампулыг вакумдан савлах

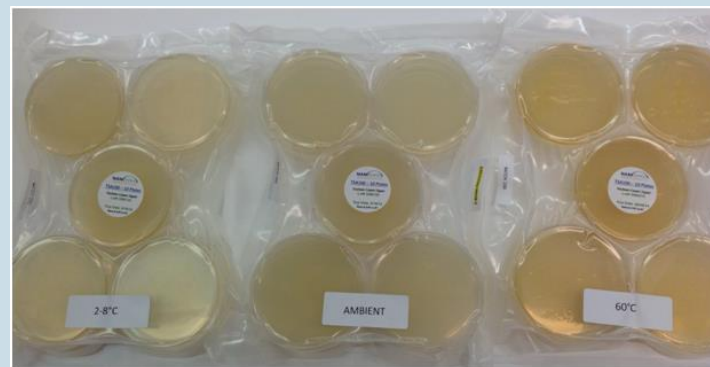
Хадгалах тохиромжтой температурыг тодорхойлох

- 2 - 8°C (хөргөгч)
- 18-22°C (Өрөөний хэм)
- - 20°C (Хөлдөөгч)

Хадгалах хугацааг тодорхойлох

- 1 сар
- 3 сар
- 6 сар
- 9 сар

Agar Plates Vacuum-Sealed in Nylon/Polyethylene Packaging Flushed with Nitrogen



*Хөргөгчинд үйлдвэрлэснээс хойш 6 сар хадгална (2 - 8 °C).

Тестийг ашиглах аргачлал

1-р шат (дээж бэлтгэл)

- Дээж авах: 100 гр махны дээж авч, зохих шошготой ариутгасан полиэтилен уутанд хийж, бүрэн асептик нөхцөлд мөстэй хайрцагт тээвэрлэн, лабораторид хүргэнэ.
 - Дээж хадгалах: дээжийг хөргүүрт хадгалан 24 цагийн дотор шинжилгээг хийнэ.
 - Махны шүүс шахах: махыг шүүс шахагчаар шахаж, шүүс гаргана.
- *Хөлдүү махны гэсгээсний дараах шүүсийг ашиглаж болно.

2-р шат (урвал тавих)

- Ампултай тэжээлт орчин дээр махны шүүс нэмэх
- Тасалгаанд 20 минут тавьж махны шүүсийг тэжээлт орчинд шингээх
- Ампул доторхийг нэрмэл усаар 2 удаа зайлж, махны үлдэгдлийг арилгаад таглах
- Ампулаа 65°C –д тохируулсан халаагуурт 3 цаг тавих

3-р шат (үр дүнг үнэлэх)

- Ампулыг халаагуураас гаргаад өнгийг үнэлэх
- Бактерийн өсөлт явагдсан бол тэжээлт орчин **шар** өнгөтэй болно. Энэ нь антибиотикийн үлдэгдэл илрүүлэх хязгаараас бага байгааг илэрхийлнэ.
- Бактерийн өсөлт явагдаагүй бол тэжээлт орчин **хөх** **ягаан** өнгөтэй хэвээрээ байна. Энэ нь антибиотикийн үлдэгдэл илрүүлэх хязгаараас их байгааг илэрхийлнэ.

