માછલી અને મત્સ્યઉદ્યોગ ઉત્પાદનોમાં સુક્ષ્મજીવાણુઓની ગુણવત્તા વિશ્લેષણ

ટોમ્સ સી જોસેફ

આશિષ કુમાર ઝા

રેણુકા વી.

રેમ્યા એસ.

અનુપમા ટી. કે.

આઇસીએઆર-સિઆઇએફ્ટીનું વેરાવળ સંશોધન કેન્દ્ર

આઇસીએઆર- સેન્ટ્રલ ઇન્સ્ટિટ્યૂટ ઓફ ફિશરીઝ ટેકનોલોજી

મત્સ્યભવન, ભીડિયા પ્લોટ, વેરાવળ, ગુજરાત - 362 269

2020

લેખકો

ટોમ્સ સી જોસેફ

આશિષ કુમાર ઝા

રેણુકા વી.

રેમ્યા એસ.

અનુપમા ટી. કે.

અનુવાદક

પરમાર એજાઝ એ.રહીમ

©આઇસીએઆરનું વેરાવળ સંશોધન કેન્દ્ર - સેન્ટ્રલ ઇન્સ્ટિટ્યૂટ ઓફ ફિશરીઝ ટેકનોલોજી

પ્રશસ્તિપત્ર: જોસેફ, ટી.સી., ઝા, એ.કે., રેણુકા, વી., રેમ્યા, એસ. અને અનુપમા , ટી. કે., 2020 માછલી અને મત્સ્યઉદ્યોગ ઉત્પાદનોના માઇક્રોબાયલ ગુણવત્તા વિશ્લેષણ , આઇસીએઆરનું વેરાવળ સંશોધન કેન્દ્ર - સેન્ટ્રલ ઇન્સ્ટિટ્યૂટ ઓફ ફિશરીઝ ટેકનોલોજી, ગુજરાત, ભારત. 149 પી.

બધા હકો અમારી પાસે રાખેલા છે. પ્રકાશકોની અગાઉની લેખિત પરવાનગી વિના , આ પ્રકાશનનો કોઈ પણ ભાગ કોઈપણ સ્વરૂપમાં અથવા કોઈપણ રીતે ફરીથી ઉત્પન્ન કરી શકાશે નહીં.

આઈસીએઆર-સીઆઈફટીનું વેરાવળ સંશોધન કેન્દ્ર

મત્સ્યભવન, ભીડિયા પ્લોટ, વેરાવળ, ગુજરાત - 362 269

ફોન: 02876 231297

ફેક્સ: 02876 231576

ઇમેઇલ: veravalcift@gmail.com

કવર ડિઝાઇન: પ્રજીત કે.કે.

2020

પ્રકાશિત : **ડો.રવિશંકર સી.એન., ડાયરેક્ટર,**
આઈસીએઆર-સેન્ટ્રલ ઇન્સ્ટિટ્યૂટ ઓફ ફિશરીઝ ટેકનોલોજી, કોચીન.

નિર્માતા : **ડો. ટોમ્સ સી જોસેફ, સાયન્ટિસ્ટ-ઇન-ચાર્જ,**
આઇ.સી.એ.આર.,સી.આઈ.એફ.ટી. નું વેરાવળ આર.સી., ગુજરાત

ભાવાર્થ

આઇસીએઆર-સેન્ટ્રલ ઇન્સ્ટિટ્યૂટ ઓફ ફિશરીઝ ટેકનોલોજી સીફૂડની માઇક્રોબિયલ ગુણવત્તાની ખાતરી સહિત લણણી અને લણણી પછીના ક્ષેત્રમાં અગ્રણી સંસ્થા છે. માછલી અને મત્સ્યઉદ્યોગ ઉત્પાદનો વિદેશી વિનિમય કમાવનાર તરીકે માત્ર પોષણયુક્ત મહત્વપૂર્ણ જ નહીં પણ વૈશ્વિક વેપારમાં પણ મહત્વપૂર્ણ છે. તેથી , ગ્રાહકોની સ્વાસ્થ્ય સમસ્યાઓથી દૂર રહેવાની સાથે આંતરરાષ્ટ્રીય વેપારમાં તેની સ્વીકૃતિ માટે માછલીની ગુણવત્તા જાળવવી ખૂબ જ મહત્વપૂર્ણ છે. માછલીની માઇક્રોબિયલ ગુણવત્તા ખાસ કરીને ફૂડ પ્રોસેસર્સ , ગ્રાહકો અને જાહેર આરોગ્ય અધિકારીઓ માટે મોટી ચિંતા કરે છે. માઇક્રોબાયોલોજીકલ સ્થિતિ સંતોષકારક છે કે નહીં તે ચકાસવા માટે અધિકારીઓ દ્વારા માછલી અને માછલીના ઉત્પાદનોની સંખ્યાબંધ માઇક્રોબાયોલોજીકલ પરિક્ષણોનો ઉપયોગ કરવામાં આવે છે. આ પરીક્ષણોનો હેતુ રોગકારક બેક્ટેરિયા અથવા ફેકલ પ્રદૂષણના સૂચક સજીવ અથવા અન્ય પ્રકારની સામાન્ય દૂષણ અથવા નબળા નિયંત્રણની પદ્ધતિઓ શોધવાનું છે. માછલીમાં બેક્ટેરિયાની સંખ્યાના અંદાજનો ઉપયોગ વારંવાર સુક્ષ્મજીવવૈવિક ગુણવત્તાના આકારણી માટે અથવા ઉત્પાદનની સંભવિત સલામતીનું મૂલ્યાંકન કરવા માટે થાય છે. માઇક્રોબાયોલોજી પરના કૌશલ્ય વિકાસના કાર્યક્રમો એ સુનિશ્ચિત કરવા માટે જરૂરી છે કે કર્મચારીઓ સીફૂડ ઉદ્યોગમાં સંબંધિત પડકારોને સંપૂર્ણ રીતે સમજવા અને તેનો સામનો કરવા માટે જરૂરી જ્ઞાન અને કૌશલ્યોથી સજ્જ છે. મને એ જાણીને ખૂબ જ આનંદ થાય છે કે આઇસીએઆર-સીઆઈએફટીના વેરાવળ સંશોધન કેન્દ્ર નિયમિતપણે માછલી અને મત્સ્યઉદ્યોગના ઉત્પાદનોના માઇક્રોબિયલ ગુણવત્તા વિશ્લેષણમાં તાલીમનો અનુભવ મેળવતા ગુજરાતના વિવિધ હિસ્સેદારોના મેનેજરો/ટેકનોલોજિસ્ટ/કોલેજના વિદ્યાર્થીઓને નિયમિતપણે તાલીમ આપે છે. ગુજરાતમાં સીફૂડ મથકોના હિસ્સેદારોની જરૂરિયાતોને પહોંચી વળવા, પુસ્તકની જરૂરિયાત છે જેમાં સુક્ષ્મજીવાણુની ગુણવત્તાના તમામ વિશ્લેષણને વ્યવસ્થિત રીતે વિગતો આપવામાં આવી છે. મને ખાતરી છે કે આ પુસ્તકમાં વર્ણવેલ તકનીકીઓ ફૂડ ટેક્નોલોજિસ્ટ્સ, વિદ્યાર્થીઓ અને ફૂડ માઇક્રોબાયોલોજીના ક્ષેત્રમાં કાર્યરત શિક્ષકો અને પ્રયોગશાળાના કામોને અનુસરતા ઉમેદવારોને ટેકો આપવા માટે ખૂબ જ ઉપયોગી માર્ગદર્શિકા હશે. હું સ્થાનિક ગુજરાતી ભાષામાં મેન્યુઅલ પ્રકાશિત કરવા માટેના પ્રયત્નો માટે આઈસીએઆર-સીઆઈફટીની ટીમ વેરાવળ આરસીની પ્રશંસા કરું છું.

ડો. સી.એન.રવિશંકર

ડાયરેક્ટર

આઈસીએઆર-સીઆઈએફટી, કોચી

પ્રસ્તાવના

માછલી એ સૌથી નાશ પામતી ખાદ્ય ચીજો છે , જે બેક્ટેરિયલ અને એન્ઝાઇમેટિક બગાડ માટે અત્યંત સંવેદનશીલ છે , જ્યાં સુધી વૈજ્ઞાનિક રૂપે નિયંત્રિત , પ્રક્રિયા, પેક અને સંગ્રહિત ન થાય. ગુજરાત સીફૂડ ઉદ્યોગ ભારતીય સીફૂડ નિકાસમાં મુખ્ય ભૂમિકા ભજવે છે , જેમાં 126 સીફૂડ પ્રોસેસિંગ પ્લાન્ટ છે , જેની ક્ષમતા 6596 મે.ટન છે. સીફૂડ ઉદ્યોગ જનતાને પોષક ખોરાક પૂરો પાડે છે અને લાખો લોકોને સીધો અને આડકતરો રોજગાર આપે છે. સીફૂડથી સંબંધિત ચેપ વિશ્વભરમાં નોંધાયા છે. માનવ વપરાશ માટે ઉત્પાદનની સલામતી સુનિશ્ચિત કરવી એ અગ્રતા છે કે જેને માત્ર નોંધપાત્ર સંસાધનો જ નહીં , પરંતુ ઉચ્ચ સ્તરની કુશળતા અને જ્ઞાનની પણ જરૂર છે. સલામત અને આરોગ્યપ્રદ માછલી અને મત્સ્યઉદ્યોગ ઉત્પાદનો દૂષિત નિયંત્રણ દ્વારા પ્રદાન કરી શકાય છે અને તે ખોરાક સલામતીના દૃષ્ટિકોણથી ખૂબ જરૂરી છે. શેલ્ફ-લાઇફનો અંદાજ કાઢવા અને માનવ વપરાશ માટે તેની સુસંગતતા સુનિશ્ચિત કરવા માટે માછલીની સૂક્ષ્મજૈવિક પરીક્ષણ કરવું જરૂરી છે. માછલી અને મત્સય ઉત્પાદનોના માઇક્રોબિયલ ગુણવત્તા વિશ્લેષણ એ યુએસએફડીએ અને એઓએસીની માઇક્રોબાયોલોજીકલ માન્ય પદ્ધતિઓનું સંકલન છે. અમને ખાતરી છે કે આ પુસ્તક સીફૂડ પ્રોસેસિંગ પ્લાન્ટના ટેકનોલોજીસ્ટ અને આ ક્ષેત્રમાં કાર્યરત વિદ્યાર્થીઓ અને વૈજ્ઞાનિકો માટે ખૂબ મદદ કરશે. આ પ્રકાશનને પ્રખર આશા સાથે સમર્પિત કરવામાં અમને ખૂબ આનંદ છે કે તેઓ વિકાસના સંગઠનો અને ઉદ્યોગસાહસિકો માટે તેમના નફાકારક શોષણ માટે અને રાષ્ટ્રની સુધારણા માટે આ પુસ્તકનો ઉપયોગ કરવાનો પ્રયત્ન કરશે.

ટોમ્સ સી જોસેફ
આશિષ કુમાર ઝા
રેણુકા વી.
રેમ્યા એસ.
અનુપમા ટી. કે.

સમાવિષ્ટો

	Page
બેક્ટેરિયોલોજીનો પરિચય	1
માઇક્રોબાયોલોજી લેબોરેટરી પ્રયાસો અને સલામતી	8
જીવાણુનાશન અને જીવાણુ નાશકક્રિયા તકનીકો	12
બેક્ટેરિયાનું ગ્રામ સ્ટેનિંગ	16
બેક્ટેરિયલ ઉછેરોની ગતિશીલતા પરીક્ષણ	20
માઇક્રોબિયલ પરિમાણો માટે સીફૂડનું નમૂનાકરણ	23
પ્લેટિંગ તકનીક દ્વારા સુક્ષ્મસજીવોની ગણતરી	28
સીફૂડમાંથી એસ્ચેરીચીયા કોલી, ટોટલ એન્ટરોબેક્ટેરિયાસી અને ફેકલ સ્ટ્રેપ્ટોકોકીને અલગ અને ઓળખ	34
પાણીમાં કોલિફોર્મ્સ નિર્ધારિત કરવાની પદ્ધતિ એમપીએન (સૌથી સંભવિત નંબર)	42
સીફૂડમાંથી સ્ટેફાયલોકોકસ ઓરિયસની અલગતા અને ઓળખ	54
સીફૂડમાંથી સાલ્મોનેલ્લાની અલગતા અને ઓળખ	63
સીફૂડમાંથી વિબ્રિઓ કોલેરાની અલગતા અને ઓળખ	80
માછલી અને મત્સ્ય ઉત્પાદનોમાંથી વી.પેરાહિમોલાયટિક્સની અલગતા અને ઓળખ	85
સીફૂડમાંથી લીસ્ટેરીયા મોનોસાયટોજન્સને અલગ કરવા અને ઓળખ	91
યીસ્ટ્સ અને મોલ્ડ્સની ગણતરી	100
બેક્ટેરિયલ ઓળખ માટે બાયોકેમિકલ પરીક્ષણો	104
સીફૂડ સ્પોઇલેજનું માઇક્રોબાયોલોજી	110
જાહેર આરોગ્ય માઇક્રોબાયોલોજી	120
સીફૂડ ની ગુણવત્તા પર હેન્ડલિંગ, પ્રોસેસીંગ, સ્ટોરેજ અને લોજિસ્ટિક્સની અસર	123
એચએસીસીપી અને સીફૂડની સૂક્ષ્મજૈવિક ગુણવત્તા નું અમલીકરણ	127
સીફૂડ ગુણવત્તા ધોરણો	144

બેક્ટેરિયોલોજીનો પરિચય

ટોમ્સ સી. જોસેફ

સુક્ષ્મસજીવોમાં વિવિધ કોષીય અને કોલોની નો મોર્ફોલોજીઓ(દેખાવો) હોય છે અને તે એક જાતિની લાક્ષણિકતા છે.

કોષીય દેખાવ

બેક્ટેરિયા ઘણા આકારમાં આવે છે. બેક્ટેરિયાના સામાન્ય આકાર છે:

કોકી - ગોળાકાર આકારની

કોકોબેસિલસ - બેક્ટેરિયલ આકાર જે કોકી અને બેસિલિ વચ્ચેનું છે

બેસિલસ - સળિયાના આકારના ફિલામેન્ટસ - કોષો જે ફિલામેન્ટ્સ જેવું લાગે છે

સ્પિરોચેટ - હેલિકલી કોઇલ્ડ, સર્પાકાર આકારના કોષો

વિબ્રિઓ – વક્ર સળિયા અથવા અલ્પવિરામ જેવો આકાર

કોલોની નો દેખાવ

કોલોની મોર્ફોલોજી પ્રજાતિઓ વચ્ચે નોંધપાત્ર રીતે બદલાઈ શકે છે અને તેનો ઉપયોગ બેક્ટેરિયાની પ્રારંભિક ઓળખમાં થાય છે.

કોલોની મોર્ફોલોજીના વર્ણન માટે સામાન્ય રીતે ઉપયોગમાં લેવાતી શરતો નીચે આપેલ છે.

આકાર - કોલોની નું સ્વરૂપ, અથવા તેના એકંદર દેખાવનું વર્ણન છે.

સામાન્ય આકાર ગોળાકાર, રાઇઝોઇડ, અનિયમિત, ફિલામેન્ટસ અને સ્પિન્ડલ છે.

માર્જિન - ગાળો એ વસાહતની ધારનો ઉલ્લેખ કરે છે અને તેમાં સંપૂર્ણ , અંડ્યુલેટ (તરંગો મળતા આવે છે) , લોબેટ (લોબડ સ્ટ્રક્ચર) , વળાંકવાળા, રાઇઝોઇડ, ફિલામેન્ટસ અથવા ઇરોઝ (અનિયમિત નિશાનવાળા) નો સમાવેશ થાય છે.

એલિવેશન- એલિવેશન કોલોનીની સાઇડ-વ્યૂનું વર્ણન કરે છે. એલિવેશનને સપાટ , ઉભા, બહિર્મુખ (વળાંકવાળી સપાટી) , પલ્વિનેટ (ગાદી-આકારની) અને અમ્બોનેટ (નોબી પ્રોબ્યુરન્સ ધરાવતા) તરીકે વર્ણવી શકાય છે.

કદ- કોલોની નું કદ પંચકફોર્મ (બિંદુ જેવું આકારનું) , નાના, મધ્યમ અથવા મોટા તરીકે વર્ણવી શકાય છે અને ઓળખ માટે ઘણીવાર ઉપયોગી લાક્ષણિકતા તરીકે ઉપયોગમાં લેવાય છે.

દેખાવ- કોલોની ની સપાટીનો દેખાવ , ઘણીવાર વર્ણવે છે કે જો કોલોની ઝગઝગતું (ચળકતા , ચળકતી) અથવા નીરસ (વાદળછાયું) હોય.

ઓપ્ટિકલ ગુણધર્મો - આ કોલોની ની અસ્પષ્ટતાનું વર્ણન કરે છે. કોલોનીમાં વારંવાર અપારદર્શક (પ્રકાશ પ્રસારિત કરતું નથી), અર્ધપારદર્શક (ફેલાયેલા પ્રકાશને પ્રકાશિત કરવા દે છે), અથવા પારદર્શક (પ્રકાશને વિક્ષેપ વિના પસાર થવા દે છે) તરીકે વર્ણવવામાં આવે છે.
સંરચના- એક કોલોનીની સુસંગતતા વર્ણવે છે. રફ કોલોનીઓ ઘણીવાર પ્રાણઘાતકતાના નુકસાન સાથે સંકળાયેલી હોય છે અને તેમાં દાણાદાર, સપાટ સપાટી હોય છે. સરળ કોલોનીમાં ચળકાટ, ગોળાકાર સપાટી હોય છે.
કોલોનીના ટેક્સચરને વર્ણવવા માટે ઉપયોગમાં લેવામાં આવતી શરતોમાં મ્યુકોઇડ (ગુંદર જેવી, ચીકણું), બ્યુટિરસ (બટરી ટેક્સચર) અથવા ડ્રાય (બરડ અથવા પાવડર કોલોની) નો સમાવેશ થાય છે.
રંગદ્રવ્ય - રંગદ્રવ્યો બેક્ટેરિયા દ્વારા બનાવવામાં આવે છે જે ચરબીમાં દ્રાવ્ય અથવા પાણીમાં દ્રાવ્ય હોઈ શકે છે. રંગદ્રવ્યોનું ઉત્પાદન પર્યાવરણીય પરિસ્થિતિઓ અથવા કોલોનીની વયના આધારે બદલાઈ શકે છે.

ઉછેર કરવાની તકનીકો

ઉછેર માધ્યમ એ પોષક તત્ત્વોનો સમાધાન છે જે સુક્ષ્મસજીવોની વૃદ્ધિ માટે જરૂરી છે. ઉછેર મીડિયાને તેમની રચના અથવા ઉપયોગના આધારે ઘણા જૂથોમાં વર્ગીકૃત કરી શકાય છે. આમાં વ્યાખ્યાયિત, જટિલ, પસંદગીયુક્ત અને સંવર્ધન માધ્યમ શામેલ છે.
સામાન્ય હેતુવાળા મીડિયા/બેસલ મીડિયા

આ મીડિયા વિવિધ પ્રકારના બેક્ટેરિયાના વિકાસને સમર્થન આપે છે. ટ્રિપ્ટીકેસ સોયા અગાર (ટીએસએ) અને પોષક અગાર (એનએ) ને મૂળભૂત માધ્યમ માનવામાં આવે છે. આ માધ્યમો સામાન્ય રીતે સુક્ષ્મસજીવોના પ્રાથમિક અલગતા માટે વપરાય છે.

વ્યાખ્યાયિત મીડિયા

નિર્ધારિત મીડિયા તે છે જેની રાસાયણિક રચના જાણીતી છે. આ માધ્યમો શુદ્ધ બાયોકેમિકલ્સથી બનેલા છે અને આ માધ્યમોની મદદથી સુક્ષ્મસજીવોની પોષક જરૂરિયાતોનો અભ્યાસ કરી શકાય છે.

જટિલ મીડિયા

જટિલ મીડિયા ની રાસાયણિક રચના જાણીતી નથી. આ માધ્યમમાં હંમેશાં જૈવિક મૂળના રીએજન્ટ્સ શામેલ હોય છે, જેમ કે ખમીરના અર્ક અને પેપ્ટોન, જ્યાં ચોક્કસ રાસાયણિક રચના અજાણ હોય. જટિલ માધ્યમમાં વિવિધ ઘટકો હોય છે જે સામાન્ય રીતે વૃદ્ધિના

પરિબળોની વિશાળ શ્રેણી પ્રદાન કરે છે જે અજાણ્યા અને કઠોર બેક્ટેરિયાની જાતિઓની ખેતીમાં મદદ કરે છે.

પસંદગીયુક્ત મીડિયા

અમુક બેક્ટેરિયાની જાતિઓના વિકાસને રોકવા અને/અથવા બેક્ટેરિયાની ચોક્કસ જાતિના વિકાસને પ્રોત્સાહન આપવા માટે પસંદગીયુક્ત માધ્યમ ઘડવામાં આવે છે. આ માધ્યમોમાં અતિરિક્ત પસંદગીયુક્ત રીએજન્ટ્સનો સમાવેશ છે , જેમ કે હેલોફાઇલ્સ માટે પસંદ કરવા માટે ઉચ્ચ મીઠાની સાંદ્રતા, અથવા પસંદગીયુક્ત વૃદ્ધિની સ્થિતિ હેઠળ તેનો ઉપયોગ કરી શકાય છે. ટીસીબીએસ અગાર એ પસંદગીયુક્ત માધ્યમો છે જેનો ઉપયોગ વી. કોલેરાને અલગ કરવા માટે થાય છે, જેનો પીએચ 8.5-8.6 છે, અને મોટાભાગના અન્ય બેક્ટેરિયાને અટકાવે છે.

સંવર્ધન મીડિયા

સંવર્ધન મીડિયાએ ચોક્કસ બેક્ટેરિયાના જાતિના વિકાસ માટે પણ પરવાનગી આપે છે ; જો કે, સંવર્ધન માધ્યમો એ રીએજન્ટ્સ સાથે પૂરક છે જે કોઈ ચોક્કસ જાતિના વિકાસને મંજૂરી આપે છે અને કોઈ જાતિના વિકાસને અટકાવતા નથી. આલ્કલાઇન પેપ્ટોન વોટર (એપીડબલ્યુ) એ વિબ્રિઓ પ્રજાતિના બેક્ટેરિયાના સમૃધ્ધિ માટે વપરાય છે.

માઇક્રોબાયોલોજીમાં પાણીનો ઉપયોગ

મીડિયા અને સોલ્યુશન્સની તૈયારી માટે ફક્ત ડી આયોનાઇઝ્ડ અને નિસ્યંદિત પાણીનો ઉપયોગ કરવો જોઈએ. વપરાયેલું પાણી પોષક તત્ત્વોથી મુક્ત , ઝેરી પદાર્થોથી મુક્ત હોવું જોઈએ અને તેમાં માઇક્રોબાયલ સામગ્રી ઓછી હોવી જોઈએ. સાબુ અને પાણીથી ધોયા પછી માઇક્રોબાયોલોજીમાં ઉપયોગમાં લેવાતા તમામ કાચનાં વાસણો આરઓ પાણીથી સારી રીતે ધોઈ નાખવા જોઈએ.

બેક્ટેરિયલ કલ્ચર મીડિયામાં સામાન્ય રીતે પ્રોટીન , કાર્બોહાઈડ્રેટ, એમિનો એસિડ ક્ષાર અને ટ્રેસ તત્વોનું મિશ્રણ હોય છે. આ બેક્ટેરિયાની મેક્રો અને માઇક્રો પોષક જરૂરિયાતોના આધારે મીડિયામાં આ ઘટકોની હાજરી અને માત્રા નોંધપાત્ર રીતે બદલાઈ શકે છે.

બેક્ટેરિયાના તાણ કેવી રીતે ઉછેર થાય છે તે પણ બેક્ટેરિયા વચ્ચે મોટા પ્રમાણમાં બદલાય છે. લિક્વિડ મીડિયાનો ઉપયોગ શુદ્ધ બેચના ઉછેરના વિકાસ અને વૃદ્ધિ માટે થાય છે , જ્યારે સોલિડ અગાર-આધારિત મિડીયા શુદ્ધ ઉછેરના અલગતા માટે વપરાય છે.

બધા ઉછેર માધ્યમો તેના ઉપયોગ પહેલાં વંધ્યીકૃત હોવા જોઈએ. આ ઘણીવાર ઓટોક્લેવની અંદર ઉંચા તાપમાને મીડિયાને ગરમ કરીને પરિપૂર્ણ થાય છે. આ સાધન વરાળ દબાણના ચોરસ ઇંચ દીઠ 15 પાઉન્ડ પ્રદાન કરે છે, જે તાપમાનમાં પહોંચવાની મંજૂરી આપે છે

અને 121°સે. તાપમાન જાળવી રાખે છે. ઓટોકલેવના દબાણને સમાન બનાવવા અને ઓટોકલેવમાંથી દૂર થતાં દૂષણને રોકવા માટે બધા માધ્યમોને વંધ્યીકરણ પહેલાં ઢીલા ઢાંકેલા હોવા જોઈએ.

તૈયાર મીડિયાનો સંગ્રહ

મીડિયા અને બ્રોથવાળા નળીઓવાળી અગર પ્લેટોને રેફ્રિજરેટરમાં 2-8° સે. પર સંગ્રહ કરો. મીડિયાને ફ્રોજન ન કરો. ભેજનું નુકસાન ન થાય તે માટે અગર પ્લેટો સીલબંધ પોલિથીન બેગમાં રાખવી જોઈએ. સંગ્રહિત મીડિયાનો ઉપયોગ કરતાં તાજા મીડિયા તૈયાર કરવા હંમેશાં વધુ સારું છે. મીડિયાની તૈયારીની તારીખ સૂચવતા એક લેબલ મૂકી શકાય છે. જો અગર પ્લેટો ભેજ ગુમાવે છે , તો મીડિયાના બેક્ટેરિયાના વિકાસને ટેકો આપવા માટે મીડિયાની કાર્યક્ષમતા ઓછી થશે.

બ્રોથ કલ્ચર

બ્રોથ એક પ્રવાહી સ્વરૂપમાં પોષક માધ્યમ છે જેનો ઉપયોગ જીવંત સુક્ષ્મસજીવોને ટેસ્ટ્યુબ અથવા ફ્લાસ્કમાં કરવામાં આવે છે. ઉછેરનું આ સ્વરૂપ ઘણા સુક્ષ્મસજીવોની ઝડપી વૃદ્ધિ માટે પરવાનગી આપે છે, અને તેનો ઉપયોગ ક્રાયોપ્રિસર્વેશન માટે નમુનાઓ તૈયાર કરવા અથવા માઇક્રોબાયલ ઉછેરોના મોટા પ્રમાણમાં ફેલાવવા માટે થાય છે.

અગાર સ્લાંટ

સ્લાંટસ એ એક સોલિડ મીડિયાનું એક પ્રકાર છે જેનો ઉપયોગ બ્રોથમાં અગારના ઉમેરાથી થાય છે. અગાર સ્લાંટને બ્રોથ કલ્ચરમાં અગાર ઉમેરીને અગારને ઓગાળવા અને મીડિયાને વંધ્યીકૃત બનાવવા માટે ઓટોક્લેવ દ્વારા તૈયાર કરવામાં આવે છે. આ માધ્યમ પછી 42° સે. સક્રિય રીતે વિકસતા ઉછેરને અસ્થાયીરૂપે સંગ્રહિત કરવા માટે અગાર સ્લાંટનો ઉપયોગ કરવામાં આવે છે. તેઓ સુક્ષ્મસજીવોની વૃદ્ધિ માટે એક વિશાળ સપાટી વિસ્તાર પ્રદાન કરે છે.

અગાર સ્ટેબ

અગાર સ્ટેબનો ઉપયોગ ઇનોક્યુલેશન તકનીક તરીકે થાય છે જ્યારે અર્ધ-નક્કર માધ્યમની ઇનોક્યુલેશન કરે છે અને તે ગતિશીલતા અથવા ઓક્સિજનના વપરાશના વિશ્લેષણ માટે વાપરી શકાય છે. અગાર સ્ટેબનો ઉપયોગ ઓક્સિજનની મર્યાદિત આવશ્યકતાઓ સાથે સુક્ષ્મસજીવોના ઉછેર માં થઈ શકે છે.

સ્ટ્રીક પ્લેટ

સ્ટ્રીક પ્લેટ તકનીકનો ઉપયોગ મિશ્ર વસ્તીથી બેક્ટેરિયાના શુદ્ધ ઉછેરને અલગ કરવા માટે થાય છે. અગારની સપાટી પર બેક્ટેરિયમનો ઇનોક્યુલમ સ્ટ્રેક્ડ હોય છે જેથી ઘણા સ્ટ્રેકીંગ પછી બેક્ટેરિયાની સંખ્યામાં ઘટાડો થાય છે. વ્યક્તિગત બેક્ટેરિયાના કોષો અલગ થઈ જાય છે અને એકબીજાથી સારી રીતે અલગ પડે છે. સજીવની સંખ્યામાં ઘટાડો થાય છે કારણ કે મૂળ નમૂનાને ક્રમિક ચતુર્થાંશ પર દોરીને પાતળું કરવામાં આવે છે. ફક્ત થોડા સજીવો ત્રીજા અથવા ચોથા ચતુર્થાંશમાં સ્થાનાંતરિત થાય છે અને સ્વતંત્ર કોલોની બનાવતી એકમો (સીએફયુ) આપશે.

સ્પ્રેડ પ્લેટ

સ્ટ્રીક પ્લેટ તકનીકની જેમ , સ્પ્રેડ પ્લેટ ઇનોક્યુલેશનનું બીજું એક સ્વરૂપ છે જેનો ઉપયોગ ઉછેરમાંથી શુદ્ધ કોલોનીને અલગ કરવા માટે થાય છે. નમૂનામાં સુક્ષ્મસજીવોની સંખ્યાને પ્રમાણિત કરવા માટે મુખ્યત્વે સ્પ્રેડ પ્લેટ પદ્ધતિનો ઉપયોગ થાય છે.

પોર પ્લેટ

પોર પ્લેટ પદ્ધતિએ એક નમૂનામાં માઇક્રોબાયલ લોડ શોધવા માટે વપરાય છે. આ પદ્ધતિમાં, એક જંતુરહિત પિપેટનો ઉપયોગ કરીને એક બ્રોથ/ નમૂનામાંથી ઇનોકુલમ જંતુરહિત પેટ્રી ડીશની મધ્યમાં મૂકવામાં આવે છે. પીગળેલું ઠડું અગાર(આશરે 15-20 એમએલ) પછી ઇનોક્યુલમવાળી પેટ્રી ડીશમાં રેડવામાં આવે છે અને સારી રીતે મિશ્રિત થાય છે. અગારના નક્કરકરણ પછી પ્લેટને ઉંધી કરી અને 24-48 કલાક માટે 37 ° સે. રાખવામાં આવે છે.

ઉછેર ની શરતો

બેક્ટેરિયાના વિકાસ માટે જરૂરી મહત્તમ વૃદ્ધિનું તાપમાન પ્રજાતિઓ વચ્ચે નોંધપાત્ર રીતે બદલાય છે કારણ કે વિવિધ વાતાવરણમાં બેક્ટેરિયા વધે છે અને વૃદ્ધિ પામે છે. મોટાભાગના પેથોજેનિક અથવા કોમેન્સલ બેક્ટેરિયા શરીરના તાપમાન (37° સે) ની નજીક સારી રીતે પ્રગતિ કરી શકે છે, જ્યારે પર્યાવરણીય તાણ 25° સે થી 30° સે. ખીલે છે.

વૃદ્ધિ માટે જરૂરી તાપમાનના આધારે, બેક્ટેરિયાને વર્ગીકૃત કરી શકાય છે;

સાયકોફાઇલ્સ (0 20 સે થી 20° સે.)

મેસોફિલ્સ (25° સે થી 40° સે.)

થર્મોફિલ્સ (45° સે થી 122° સે.)

બેક્ટેરિયાના વિકાસ અને પ્રજનન માટે મહત્તમ તાપમાન જરૂરી હોવા છતાં, મોટાભાગના બેક્ટેરિયલ તાણ તાપમાનમાં નોંધપાત્ર ઘટાડાંથી ટકી શકે છે અને 4° સે. જેવા નીચા તાપમાને બેક્ટેરિયાની વૃદ્ધિ અને ચયાપચયમાં નોંધપાત્ર ઘટાડો થાય છે.

જરૂરી વૃદ્ધિના શ્રેષ્ઠ તાપમાન સિવાય , બેક્ટેરિયા પણ શ્વસન માટે તેમની ઓક્સિજનની જરૂરિયાતમાં અલગ પડે છે.

ઓક્સિજનનો ઉપયોગ એરોબિક સજીવો , જેમ કે બેસિલસ જાતિઓ દ્વારા શ્વસન દરમિયાન ટર્મિનલ ઇલેક્ટ્રોન સ્વીકારકાર તરીકે થાય છે.

એ જ રીતે, માઇક્રોએરોફિલ્સને પણ તેમની વૃદ્ધિ અને ગુણાકાર માટે ઓક્સિજનની જરૂર હોય છે, પરંતુ પર્યાવરણમાં કુદરતી રીતે બનતા કરતા નીચા સ્તરે.

જ્યારે એનારોબિક સુક્ષ્મસજીવો ઇલેક્ટ્રોન સ્વીકૃતિઓનો ઉપયોગ કરે છે જેમ કે નાઈટ્રેટ અથવા સલ્ફેટ.

આ અકાર્બનિક કમ્પાઉન્ડમાં ઓક્સિજન કરતા ઓછા ઘટાડાની સંભાવના છે અને તેથી તે ઓછી કાર્યક્ષમ શ્વસન ધરાવે છે.

એનારોબિક સજીવો દ્વારા ઓક્સિજન અને અકાર્બનિક સંયોજનોની જરૂરિયાત પ્રજાતિઓ વચ્ચે મોટા પ્રમાણમાં બદલાઈ શકે છે.

ક્લોસ્ટ્રિડિયમ પ્રજાતિઓ જેવા એનારોબ્સને બાકાત રાખવો , ફક્ત ઓક્સિજનની ગેરહાજરીમાં જ જીવી શકે છે અને પ્રજનન કરી શકે છે. આ સજીવો ઘણીવાર ઓક્સિજનની હાજરીથી માર્યા જાય છે. એ જ રીતે , લેક્ટોબેસિલસ જાતિઓ જેવા એરોટોલેરન્ટ એનારોબ્સ , શ્વસન દરમિયાન ઓક્સિજનનો ઉપયોગ કરતા નથી ; જો કે, કડક એનારોબ્સથી વિપરીત , આ સુક્ષ્મસજીવો ટૂંકા ગાળા માટે ઓક્સિજન સહન કરી શકે છે.

ઓક્સિજનની હાજરી અને ગેરહાજરી બંનેમાં અનુકૂળ એનારોબ્સ ટકી શકે છે દા.ત. એસ્ચેરીચીયા કોલી અને સ્ટેફાયલોકોકસ જાતિઓ. આ સજીવો , જો કોઈ પસંદગી આપવામાં આવે તો તે શ્વસન દરમિયાન ઓક્સિજનના ઉપયોગને પ્રાધાન્ય આપશે કારણ કે તેમાં અન્ય ઇલેક્ટ્રોન સ્વીકારનારાઓની તુલનામાં સૌથી મોટી ઘટાડોની સંભાવના છે. એનારોબિક ઉછેરો સાથે કામ કરતી વખતે ઓક્સિજનના સંપર્કને ટાળી શકાય છે.

સામાન્ય રીતે એનારોબિક બેક્ટેરિયાના વિકાસ માટે વપરાયેલા એનારોબિક ગેસ મિશ્રણ 80% નાઇટ્રોજન, 10% કાર્બન ડાયોક્સાઇડ અને 10% હાઇડ્રોજનમાં ઉછેરવામાં આવે છે.

એનારોબિક બેક્ટેરિયાની વૃદ્ધિ માટે એનારોબિક પરિસ્થિતિઓ એનારોબિક ગેસ ચેમ્બરના ઉપયોગ દ્વારા મેળવવામાં આવે છે.

આ સિસ્ટમમાં પોલિકાર્બોનેટ જાર , હવાના પ્રવાહને રોકવા માટે ઢાકણ, મેથિલિન બ્લુ પટ્ટી અને સોડિયમ બોરોહાઇડ્રાઇડ , સોડિયમ બાયકાર્બોનેટ , સાઇટ્રિક એસિડ અને પેલેડિયમ ઉત્પ્રેરકનો સમાવેશ થાય છે. જ્યારે પાઉચમાં પાણી ઉમેરવામાં આવે છે , ત્યારે સોડિયમ બોરોહાઇડ્રાઇડ, સોડિયમ બાયકાર્બોનેટ અને સાઇટ્રિક એસિડ હાઈડ્રોજન અને કાર્બન ડાયોક્સાઇડ બનાવે છે. જારમાં પેલેડિયમ દ્વારા હાઇડ્રોજન અને ઓક્સિજન વચ્ચેની પ્રતિક્રિયા આવે છે. આ પ્રતિક્રિયાના પરિણામે પાણીની રચના થાય છે , જે બરણીની અંદરના ભાગમાં ઘટ્ટ થાય છે. મેથિલિન વાદળી એ એનારોબિક વાતાવરણમાં રંગહીન હોય છે પરંતુ ઓક્સિજનની હાજરીમાં વાદળી હોય છે. જ્યારે એનારોબિક જારમાંનો ઓક્સિજન પાણી અને કન્ડેન્સેશન સ્વરૂપોમાં ફેરવાય છે, ત્યારે સૂચક પટ્ટી વાદળીથી સફેદ થઈ જશે.

વપરાયેલ મીડિયાનો નિકાલ

વપરાયેલ મીડિયામાં બેક્ટેરિયાની ઉંચી સાંદ્રતા હોઈ શકે છે અને તે સંભવિત જોખમી છે અને તેનો નિકાલ સલામત રીતે કરવો જોઇએ. ઇનોક્યુલેટેડ હોય તેવા તમામ ઉછેર મીડિયાને ફક્ત માઇક્રોબાયોલોજીકલ પ્રક્રિયાઓમાં તાલીમ પામેલા લાયક કર્મચારીઓ દ્વારા જ સંચાલિત થવું જોઈએ. એવું માનવું જોઈએ કે બધા વપરાયેલ માધ્યમોમાં પેથોજેનિક બેક્ટેરિયા હોય છે અને તેથી તેનો નિકાલ કરતા પહેલા ઓટોક્લેવ થવો જોઈએ.

****

માઇક્રોબાયોલોજી લેબોરેટરી પ્રયાસો અને સલામતી

ટોમ્સ સી. જોસેફ

સુક્ષ્મસજીવો ધરાવતા અને સુક્ષ્મસજીવો સાથે કામ કરતા વ્યક્તિઓને યોગ્ય રીતે સુરક્ષિત રાખવા માટે માઇક્રોબાયોલોજી પ્રયોગશાળામાં વિશેષ પ્રથાઓ અને સુવિધાઓ આવશ્યક છે.

- પ્રયોગશાળાના આગમન સમયે અને પ્રયોગશાળા છોડતા પહેલા જંતુનાશક સાબુથી હાથ ધોવા.
- પ્રયોગશાળાની દરમિયાન , ચહેરો અથવા આંખોને સ્પર્શ કરવાનું ટાળો. જ્યારે તમે પ્રયોગશાળામાં હો ત્યારે મોબાઇલ ફોન્સ , પર્સ વગેરે હેન્ડલ ન કરો કારણ કે તે દૂષિત થઈ શકે છે.
- પ્રયોગશાળામાં ખોરાક, પીણા અથવા ચ્યુઇંગમની મંજૂરી નથી. પેન્સિલો , પેન અથવા આંગળીઓ જેવી કોઈ પણ વસ્તુ મોંમાં ના મુકો.
- સૂક્ષ્મજીવો સંગ્રહિત હોય ત્યાં રેફ્રિજરેટરોમાં ખોરાક , પીવા માટેનું પાણી અને ઠંડા પીણા સંગ્રહિત ન કરો.
- લેબોરેટરીમાં લેબ કોટ પહેરો. લેબમાં લેબ કોટ છોડો અને નોન-લેબ વિસ્તારોમાં લેબ કોટ ન પહેરો.
- ઢીલા વસ્ત્રો ટાળો. પ્રયોગશાળામાં જૂતા પહેરો. પ્રયોગશાળામાં સેન્ડલની ભલામણ કરવામાં આવતી નથી.
- કાર્યસ્થળને બધી બિનજરૂરી સામગ્રીથી મુક્ત રાખો. બેકપેક્સ , બેગ, પર્સ અને કોટ્સ લેબમાં ન રાખવા જોઈએ.
- 70% ઇથેનોલ અથવા તાજા 10% બ્લીચ સાથે ઉપયોગ કરતા પહેલા અને પછીના કામના વિસ્તારોને જંતુમુક્ત કરો.
- જો તમારી આંખો સુક્ષ્મસજીવો અથવા નુકસાનકારક રસાયણોના સંપર્કમાં આવે છે , તો તમારી આંખોને 15 મિનિટ પાણીથી ધોઈ લો અને તરત જ તબીબી સહાય મેળવશો.
- બધા રીએજન્ટ્સ , મીડિયા, રસાયણો વગેરેને સ્પષ્ટપણે લેબલ કરો અને તૈયારીની તારીખ સૂચવો.
- બનસન બર્નરની જ્યોતની નજીક અથવા બાયોસફ્ટી કેબિનેટ સિવાય લેબમાં પેટ્રી ડીશ ખોલશો નહીં.
- ઇનોક્યુલેટિંગ લૂપ્સ અને સોય દર વખતે બનસન બર્નરમાં નીચે રાખવામાં આવે તે પહેલાં જંતુમુક્ત હોવી જોઈએ.
- ઉપયોગમાં ન હોય ત્યારે બનસન બર્નર ને બંધ કરો.

- ખાસ કરીને જ્યારે બનસન બર્નર ઉપયોગમાં લેવાય ત્યારે લાંબા વાળને નિયંત્રિત રાખવું આવશ્યક છે.
- જ્યારે તમે આલ્કોહોલ વડે જંતુમુક્ત કરો છો , ત્યારે ખાતરી કરો કે તમારી પાસે કોઈ કાગળ અથવા કપાસ તમારી પાસે નથી.
- બધા સુક્ષ્મસજીવોને સંભવિત પેથોજેન્સ તરીકે સારવાર કરો અને તેથી યોગ્ય કાળજી આપો.
- સંભવિત ચેપી સૂક્ષ્મજીવાણુઓ અથવા નમૂનાઓ સાથે કામ કરતી વખતે નિકાલજોગ ગ્લોવ્ઝ પહેરો.
- મોં દ્વારા ક્યારેય પીપેટ ન કરો. માઇક્રોપિપેટ , પાઇપિટિંગ સહાય અથવા એડજસ્ટેબલ વોલ્યુમ પાઇપિટર્સનો ઉપયોગ કરો.
- બાયોહઝાર્ડને ધ્યાનમાં લો. સિંક નીચે કંઈપણ રેડવું નહીં. ઓટોક્લેવ લિક્વિડ્સ, પેટ્રી ડીશ અને બ્રોથ ઉછેરો છોડતા પહેલા તેને વંધ્યીકૃત કરવા.
- બધી નક્કર કચરાની સામગ્રીનો નિકાલ બાયોહઝાર્ડ બેગમાં કરી શકાય છે અને નિયમિત કચરાપેટીમાં છોડતા પહેલા ઓટોક્લેવ થઈ શકે છે.
- તમારા પ્રયોગશાળામાં તરત જ સ્પિલ્સ અને અકસ્માતોની જાણ થઈ શકે છે. કાળજી સાથે નાના સ્પીલ સાફ કરો.

બાયોલોજિકલસેફ્ટી કેબિનેટ્સ

બાયોલોજિકલસેફ્ટી કેબિનેટ્સ વર્કસ્પેસ છે જે લેબોરેટરી પ્રક્રિયા દરમિયાન પ્રયોગશાળા કર્મચારીઓ અને સામગ્રીને દૂષિત થવાથી સુરક્ષિત કરવા માટે રચાયેલ છે. બાયોસેફ્ટી કેબિનેટમાં ઉચ્ચ કાર્યક્ષમતા પાર્ટિક્યુલેટ એર (એચ.ઇ.પી.એ.) ફિલ્ટર્સનો ઉપયોગ કરવામાં આવે છે જે હવામાંથી હાનિકારક સુક્ષ્મજીવાણુઓને દૂર કરે છે.

બાયોલોજિકલસેફ્ટી કેબિનેટ્સ

વર્ગ I:

આ જૈવિક સલામતી કેબિનેટ્સ એચ.ઇ.પી.એ. ફિલ્ટરેશન સિસ્ટમ્સવાળી ખુલ્લી-આગળની સિસ્ટમો છે. વર્ગ I બાયોસફ્ટી કેબિનેટો પ્રયોગશાળાના કર્મચારીઓ અને પર્યાવરણ માટે સુરક્ષા પૂરી પાડે છે, પરંતુ તે ઉત્પાદનને સુરક્ષા પ્રદાન કરશે નહીં. આ કેબિનેટ્નો ઉપયોગ વિશિષ્ટ ઉપકરણો રાખવા અથવા સંભવિત જોખમી એરોસોલ્સ પેદા કરતી પ્રકિયા માટે થાય છે.

વર્ગ II:

આ જૈવિક સલામતી કેબિનેટ્સ ખુલ્લા-આગળ , વેન્ટિલેટેડ, લેમિનાર-ફ્લો કેબિનેટ્સ છે. આ કેબિનેટ્સ દ્વારા કાર્યસ્થળની અંતર્ગત એચ.ઇ.પી.એ.-ફિલ્ટર કરેલ , પુનર્વાહિત એરફ્લો પ્રદાન કરવામાં આવે છે. વર્ગ II ના કેબિનેટો પ્રયોગશાળા કર્મચારીઓ , પર્યાવરણ અને ઉત્પાદનોને સંભાળવામાં આવી રહેલા ઉત્પાદનો પર જંતુરહિત હવાના પડદા દોરીને રક્ષણ પૂરું પાડે છે. આ કેબિનેટ્સ સામાન્ય રીતે સંભવિત ચેપી એજન્ટો (બાયોસફ્ટી લેવલ 1 અથવા 2) સાથે કામ કરતા માઇક્રોબાયોલોજી પ્રયોગશાળાઓમાં ઉપયોગમાં લેવાય છે કારણ કે તે બાહ્ય વાયુયુક્ત દૂષણોથી સમાવિષ્ટ સામગ્રીને સુરક્ષિત કરે છે.

વર્ગ III:

વર્ગ III જૈવિક સલામતી કેબિનેટ્સ ગેસ-ટાઇટ બાંધકામ સાથે સંપૂર્ણ રીતે બંધ , વેન્ટિલેટેડ સિસ્ટમ્સ છે. આ કેબિનેટ્સનો ઉપયોગ જોડાયેલ રબરના ગ્લોવ્સ દ્વારા થાય છે. હવાઈ સપ્લાય એચ.પી.એ. ફિલ્ટર્સ દ્વારા કેબિનેટમાં ખેંચાય છે , અને એક્ઝોસ્ટ એર શ્રેણીમાં સ્થાપિત બે એચ.પી.એ. ફિલ્ટર્સ દ્વારા ફિલ્ટર કરવામાં આવે છે. આ બાયોસેફ્ટી કેબિનેટ સિસ્ટમનો ઉપયોગ સામાન્ય રીતે ઉચ્ચ જોખમવાળા ચેપી એજન્ટો (બાયસોફીનો સ્તર 3 અથવા 4) એરોસોલ્સથી બચવા માટે થાય છે.

બિન-ચેપી સામગ્રી સાથે કામ કરતી વખતે વર્ગ I અથવા વર્ગ II ના બાયોસ afફ્ટી કેબિનેટનો યોગ્ય રીતે ઉપયોગ કરવાની ટીપ્સ:

- ઉપયોગ પહેલાં અને પછી યોગ્ય જંતુનાશક પદાર્થ સાથે કામની સપાટીને સાફ કરો.
- જો બાયોસેફ્ટી કેબિનેટ જંતુનાશક યુવી લાઇટથી સજ્જ હોય , તો યુવી લાઇટ ચાલુ કરીને ઉપયોગ પહેલાં અને પછીના કામની સપાટીને ડિકોન્ટિનેટ કરો. બાયોસેફ્ટી કેબિનેટ ઉપયોગમાં હોય ત્યારે યુવી લાઇટનો ઉપયોગ ક્યારેય કરશો નહીં.
- બાયોહઝાર્ડ કચરાનો ઉપયોગ બાયોસેફ્ટી કેબિનેટમાંથી નિયમિત રૂપે ઉપયોગમાં લેવામાં આવતી ટીપ્સ, પીપેટ્સ વગેરેને દૂર કરો.
- બાયોસેફ્ટી કેબિનેટમાં મૂકતા પહેલા , યોગ્ય જંતુનાશક પદાર્થનો ઉપયોગ કરીને , બધા પાઈપિટ્સ, પીપેટ ટીપ બોક્સ, મીડિયા, સામગ્રી વગેરેની બાહ્ય સપાટીને સાફ કરો.
- બાયોસેફ્ટી કેબિનેટમાં કામ કરતી વખતે સ્વચ્છ લેબ કોટ અને જંતુરહિત ગ્લોવ્સ હંમેશા પહેરવામાં આવે છે.

બાયોસેફ્ટી કેબિનેટનો યોગ્ય રીતે ઉપયોગ કેવી રીતે કરવો

- ઉપયોગ કરતા 15 મિનિટ પહેલાં બાયોસેફ્ટી કેબિનેટ ચાલુ કરો.
- બાયોસેફ્ટી કેબિનેટની માત્રાને ફક્ત ભલામણ કરેલા સ્તર સુધી વધારવી , આનાથી હવાના પ્રવાહમાં વિક્ષેપ ઓછો થશે અને સાથે સાથે વાયુયુક્ત દૂષિત પ્રવેશને રોકવામાં મદદ મળશે.
- કેબિનેટની આજુબાજુ હિલચાલની માત્રા મર્યાદિત હોઈ શકે છે. વધુમાં , બાયોસફ્ટી કેબિનેટની આસપાસના ક્ષેત્રની હાલચાલને મર્યાદિત કરો. આ વાયુપ્રવાહમાં વિક્ષેપ ઘટાડશે.

****

જીવાણુનાશન અને જીવાણુ નાશકક્રિયા તકનીકો
ટોમ્સ સી. જોસેફ

જીવાણુ નાશકક્રિયા અને જીવાણુનાશન બંને વિઘટન પ્રક્રિયાઓ છે. જો કે જીવાણુનાશન અને જીવાણુ નાશકક્રિયા વચ્ચે અલગ તફાવત છે. જીવાણુ નાશક પદાર્થ નિર્જીવ પદાર્થો અને સપાટીઓથી હાનિકારક સુક્ષ્મસજીવોને દૂર કરે છે અથવા ઘટાડે છે , જ્યારે જીવાણુનાશન , બેક્ટેરિયલ બીજકણ સહિતના તમામ સુક્ષ્મસજીવોને મારી નાખે છે , જે અત્યંત પ્રતિરોધક છે. જીવાણુ નાશકક્રિયા સામાન્ય રીતે ફિનોલિક જંતુનાશક પદાર્થો , હેલોજેન્સ (દા.ત. ક્લોરિન), ભારે ધાતુઓ, આલ્કોહોલ્સ, બ્લીચ, હાઇડ્રોજન પેરોક્સાઇડ, ડિટરજન્ટ્સ દ્વારા કરવામાં આવે છે. હીટિંગ અને પેસ્ટ્યુરાઇઝેશનનો ઉપયોગ જીવાણુ નાશકક્રિયા માટે થાય છે , જ્યારે ગરમી , રસાયણો, ઇરેડિયેશન, ઉચ્ચ દબાણ અને શુદ્ધિકરણનો ઉપયોગ જીવાણુનાશન માટે થાય છે.

જીવાણુનાશન ની 3 પદ્ધતિઓ છે:

એ. ફિઝિકલ બી. મિકેનિકલ સી. કેમિકલ

એ ફિઝિકલ:

I. ગરમી

સુક્ષ્મસજીવોના ઉત્સેચકો અને અન્ય આવશ્યક કોષ ઘટકોના વિનાશ દ્વારા ગરમી જીવાણુનાશન કરવામાં આવે છે અને જીવાણુનાશનની સૌથી વધુ ઉપયોગમાં લેવાતી અને વિશ્વસનીય પદ્ધતિ છે. તે જીવાણુનાશનની સૌથી પ્રાયોગિક અને વિશ્વસનીય પદ્ધતિ છે અને આના દ્વારા આ કરી શકાય છે:

શુષ્ક ગરમી:

એ. લાલ ગરમી અથવા જ્વલનશીલ (જ્વલન)

લાલ ગરમીનો ઉપયોગ ફોર્સેપ્સ, સ્પેટ્યુલાઝ, વાયર લૂપ, સોય, ઉછેરના નળીઓના મોં, કાચની સ્લાઇડ વગેરેના જીવાણુનાશન માટે થઈ શકે છે.

બી. ગરમ હવાવાળી નાની ભઠ્ઠી

ગરમ હવાવાળી નાની ભઠ્ઠી ગ્લાસ પેટ્રી ડીશ, ગ્લાસ પીપ્ટેટ્સ, ગ્લાસ ફ્લાસ્ક, ડ્રાય ગ્લાસ વેર, માપન સિલિન્ડરો, બધા ગ્લાસ સિરીંજના જીવાણુનાશન માટે વાપરી શકાય છે. આ પદ્ધતિ દ્વારા ધાતુના સાધનો અને તેલ અને ગ્રીસને પણ જીવાણુનાશન કરી શકાય છે.

ગરમ હવાવાળી નાની ભઠ્ઠીમાં (i) ઇન્સ્યુલેટેડ ચેમ્બર હોય છે જેમાં ઇલેક્ટ્રિક હીટર હોય છે. (ii) પંખો (iii) છાજલીઓ (iv) થર્મોકોપલ્સ (v) તાપમાન સેન્સર.

ગરમ હવાવાળી નાની ભઠ્ઠીમાં જીવાણુનાશન માટે વપરાયેલ તાપમાન 160° સે - 180° સે છે. ગરમ હવાવાળી નાની ભઠ્ઠી દ્વારા જીવાણુનાશનની શરતો: 60 મિનિટ માટે 160° સે. 30 મિનિટ માટે 180° સે.

2. ભેજવાળી ગરમી:

ભેજવાળી ગરમી જીવાણુનાશન માટે સૌથી અસરકારક પદ્ધતિ છે. ભેજવાળી ગરમી દબાણ હેઠળ વરાળના સ્વરૂપમાં વપરાય છે. ભેજ હોય ત્યારે ગરમીનું પરિવહન ઝડપી થાય છે. વરાળ દ્વારા જીવાણુનાશન માટે વિવિધ પદ્ધતિઓ છે.

1. ઘણી વખત 100 ડિગ્રી સે. પર તૂટક સંપર્કમાં (ટાયંડ્લિલાઈઝેશન): ગરમી પ્રતિરોધક એન્ડોસ્પોર્સને મારવા માટે માઇક્રોબાયોલોજી પ્રયોગશાળામાં આ પદ્ધતિ લાગુ પડે છે. ટિંડલાઇઝેશનમાં સામગ્રીને ઉકળતા સ્થાને ગરમ કરવા અને ક્રમિક રીતે ત્રણ દિવસ સુધી 15 મિનિટ સુધી પકડવાનો સમાવેશ થાય છે. દરેક ગરમી પછી , જે બીજકણ બચી ગયા છે તે બેક્ટેરિયાના કોષોમાં અંકુરિત થાય છે. આ કોષો બીજા દિવસે ગરમીથી મરી જશે.

2. પેશ્ચરાઇઝેશનનો ઉપયોગ પેથોજેન્સને દૂર કરવા અને દૂધ અને ફળોના રસ જેવા અમુક ખોરાકના શેલ્ફ લાઇફને હળવા તાપમાથી , સામાન્ય રીતે 100 ડિગ્રી સે. પેશ્ચરાઇઝેશન જીવાણુનાશનની પદ્ધતિ નથી. તેના બદલે તે મુખ્યત્વે દૂધ અને અન્ય ડેરી ઉત્પાદનોના સંરક્ષણ માટે ખાદ્ય ઉદ્યોગોમાં ઉપયોગમાં લેવામાં આવતી પ્રક્રિયા છે. આ પ્રક્રિયામાં ઉત્પાદને 30 મિનિટ માટે for 63° સે. તાપમાનમાં અથવા 15 સેકંડ માટે 72° સે. અને પછી તરત જ તેને ઠંડુ કરો.

3. 100°સે થી વધુ તાપમાન સંતૃપ્ત વરાળના દબાણ હેઠળ ઓટોક્લેવ્સ દ્વારા જીવાણુનાશન માટે વપરાય છે. આ પ્રક્રિયા ઉછેર મીડિયા , લેબ કોટ્સ અને જલીય દ્રાવણ માટે યોગ્ય છે. ઓટોકલેવિંગનું તાપમાન 121° સે. પર 15 પિ.એસ.આઇ.(પાઉન્ડ/ઇંચ) પર 15 મિનિટ માટે છે.

દબાણયુક્ત વરાળનો ઉપયોગ સુક્ષ્મસજીવોને નાશ કરવા માટે ઓટોક્લેવ્સમાં થાય છે, અને તેનો ઉપયોગ પ્રયોગશાળા માધ્યમો અને કચરાના પુન :સંકટકરણ માટે અને પ્રયોગશાળા કાચનાં વાસણો, મીડિયા અને રીએજન્ટ્સના જીવાણુનાશન માટે થાય છે. કાર્યક્ષમ ગરમીના સ્થાનાંતરણ માટે , હવાને ઓટોક્લેવ ચેમ્બરમાંથી બહાર કાઢી નાખવી આવશ્યક છે. ઓટોકલેવની કાર્યક્ષમતાને બેસિલસ સ્ટીરોથર્મોફિલસના બીજ જેવા જૈવિક સૂચકાંકો દ્વારા સમયાંતરે ચકાસી શકાય છે. ઓટોક્લેવ્સનો ઉપયોગ ઘણી ધાતુ અને કાચની વસ્તુઓના જીવાણુનાશન માટે થઈ શકે છે પરંતુ તેનો ઉપયોગ રબર , પ્લાસ્ટિક અને સાધનસામગ્રી માટે કરી શકાતો નથી જેનાથી ઉંચા તાપમાને નુકસાન થાય છે.

II. રેડિયેશન

ઇલેક્ટ્રોમેગ્નેટિક રેડિયેશન (દા.ત. ગામા કિરણો અને યુવી લાઇટ), પાર્ટિક્યુલેટ રેડિયેશન (દા.ત. એક્સિલરેટેડ ઇલેક્ટ્રોન) સહિતના રેડિયેશનનો ઉપયોગ જીવાણુનાશન માટે થાય છે. કિરણોત્સર્ગ માઇક્રોબાયલ ડીએનએને લક્ષ્ય આપે છે. જ્યારે ગામા કિરણો અને ઇલેક્ટ્રોન મફત આમૂલ ઉત્પાદન અને આયનોઇઝેશનનું કારણ બને છે, ત્યારે યુવી પ્રકાશ ઉત્તેજનાનું કારણ બને છે. તીવ્ર ઉર્જા ગામા કિરણો અથવા પ્રવેગિત ઇલેક્ટ્રોન સાથેના રેડિયેશન જીવાણુનાશનનો ઉપયોગ ગરમી સંવેદનશીલ ઉત્પાદનોના ઓદ્યોગિક જીવાણુનાશન માટે થાય છે. રેડિયેશન જીવાણુનાશન પ્લાસ્ટિકની સિરીંજ અને શુષ્ક ફાર્માસ્યુટિકલ ઉત્પાદનોના જીવાણુનાશન માટે વપરાય છે. 260 એનએમની યુવી લાઇટનો ઉપયોગ હવાના જીવાણુનાશન અને કાર્યક્ષેત્રની સપાટીના જીવાણુનાશન માટે થઈ શકે છે. યુવી લાઇટમાં ઓછી ઉર્જા અને નબળા પ્રવેશ છે. તેનો ઉપયોગ ગ્રેડના પાણીના ઉત્પાદન માટે કરી શકાય છે, પરંતુ ફાર્માસ્યુટિકલ ડોઝ સ્વરૂપોના જીવાણુનાશન માટે યોગ્ય નથી. કોબાલ્ટ-60 જીવાણુનાશન માટે ગામા કિરણોનું સ્રોત છે.

બી. યાંત્રિક પદ્ધતિઓ (ગાળણક્રિયા)

શુદ્ધિકરણ દ્વારા સોલ્યુશન્સ અને પ્રવાહી મુક્ત બનાવી શકાય છે. આ ઉકેલો પછી જંતુરહિત હોય છે. ફિલ્ટરેશનનો ઉપયોગ ઉકેલો અને પ્રવાહીના જીવાણુનાશન માટે થાય છે જે ગરમી અથવા રસાયણોના સંપર્કમાં ન આવી શકે. ફિલ્ટરેશન શારીરિકરૂપે સુક્ષ્મસજીવોને જુદા પાડે છે કારણ કે પ્રવાહી પસાર થાય છે અને તેમને મારતો નથી. વ્યાસ 0.2 μm ની છિદ્ર કદવાળા ફિલ્ટર્સ બેક્ટેરિયા અને સુક્ષ્મસજીવોને દૂર કરશે પરંતુ વાયરસને દૂર કરી શકશે નહીં. વાયરસ દૂર કરવા માટે 10 એનએમની પોરોસિટીના ફિલ્ટર્સની ભલામણ કરવામાં આવે છે. ફિલ્ટરેશનનો ઉપયોગ જૈવિક પ્રવાહી જેવા સુક્ષ્મસજીવોને દૂર કરવા માટે થાય છે જેમ કે સામાન્ય સેરા , વિવિધ સુગર સોલ્યુશન્સ , એન્ટિસેરા, સોલ્યુશન ધરાવતા એન્ઝાઇમ્સ , માઇક્રોબાયલ ઝેર અને એન્ટીબાયોટીક સોલ્યુશન્સ કે જે અન્ય પદ્ધતિઓ દ્વારા જીવાણુનાશન કરી શકાતા નથી.

સી. રાસાયણિક પદ્ધતિઓ

જીવાણુનાશનની રાસાયણિક પદ્ધતિનો ઉપયોગ ત્યારે થાય છે જ્યારે જીવાણુનાશન કરવામાં આવતી સામગ્રી વરાળ જીવાણુનાશનમાં વપરાયેલી ઉંચી ગરમી પ્રત્યે સંવેદનશીલ હોય છે. જીવાણુનાશક પદાર્થો એ રસાયણો છે જેનો ઉપયોગ નિર્જીવ સપાટીઓથી રોગકારક બેક્ટેરિયાને નષ્ટ કરવા માટે થાય છે. કેટલાક રસાયણો જે ત્વચા અને મ્યુકસ મેમ્બ્રેન પર સુરક્ષિત રીતે લાગુ કરી શકાય છે તેને એન્ટિસેપ્ટિક્સ કહેવામાં આવે છે. રાસાયણિક એજન્ટ રોગકારક અને બિન-પેથોજેનિક સુક્ષ્મસજીવોને મારી નાખે છે પરંતુ બીજકણ નહીં. જીવાણુ

નાશકક્રિયા એ રોગકારક બેક્ટેરિયાની સંખ્યાને એક સ્તર સુધી ઘટાડવાની પ્રક્રિયા છે જે રોગ થવાની શક્યતા નથી. જંતુનાશક પદાર્થોની સાંદ્રતા આપેલ મુજબ છે: ઇથિલ આલ્કોહોલ (50-70)%, ફિનોલ જૂથ (2-5%), ક્લોરિન સંયોજનો 5%, ફોર્માલ્ડીહાઇડ (ગેસ) 37%.

****

બેક્ટેરિયાનું ગ્રામ સ્ટેનિંગ

આશિષકુમાર ઝા

સ્ટેનિંગ એ એક તકનીક છે જેનો ઉપયોગ માઇક્રોસ્કોપિકમાં ઇમેજની સ્પષ્ટતામાં વધારો કરવા માટે થાય છે. કોષો , પેશીઓ અથવા સુક્ષ્મસજીવોની માઇક્રોસ્કોપિક રચનાની દૃશ્યતા વધારવા માટે વિવિધ સ્ટેન અને રંગનો ઉપયોગ થાય છે.

માઇક્રોબાયોલોજીકલ પરીક્ષાઓમાં સૌથી વધુ ઉપયોગમાં લેવામાં આવતી સ્ટેનિંગ પ્રક્રિયા છે, જેનું નામ ડેનિશ ચિકિત્સક હંસ ક્રિશ્ચિયન જોઆચિમ ગ્રામના નામ પર રાખવામાં આવ્યું છે, જેણે તેને 1884 માં શોધી કાઢયું હતું. સ્ટેનિંગ પ્રક્રિયા દરમિયાન ઉપયોગમાં લેવાતા સ્ટેનનો રંગ જાળવી રાખવા બેક્ટેરિયાની ક્ષમતાના આધારે. ગ્રામ પોઝિટિવ બેક્ટેરિયા ડાઘના જાંબુડિયા રંગને જાળવી રાખે છે અને આલ્કોહોલ વોશ દરમિયાન ડીકોલોરાઇઝ થતો નથી , જ્યારે ગ્રામ નેગેટિવ બેક્ટેરિયા રંગ ગુમાવે છે અને આલ્કોહોલના ધોવાથી ડીકોલોરાઇઝ્ડ થાય છે.

ગ્રામ સ્ટેનિંગનું મહત્વ

1. પ્રારંભિક લાક્ષણિકતા અને બેક્ટેરિયાના વર્ગીકરણમાં ગ્રામ સ્ટેનિંગ મહત્વપૂર્ણ ભૂમિકા ભજવે છે.

2. તે બેક્ટેરિયાને તેમની સ્ટેનિંગ લાક્ષણિકતાઓના આધારે ઓળખવામાં મદદ કરે છે , અમને પ્રકાશ માઇક્રોસ્કોપ હેઠળના બેક્ટેરિયાની તપાસ કરવા માટે સક્ષમ કરે છે. અનસ્ટિન્ડ સ્મીયરમાં હાજર બેક્ટેરિયા પ્રકાશ માઇક્રોસ્કોપ હેઠળ અદ્રશ્ય છે.

3. તે મોર્ફોલોજી અને બેક્ટેરિયાની ગોઠવણીને સમજવામાં મદદ કરે છે.

ગ્રામ સ્ટેનિંગના મૂળ પગલાં

1. સ્મીયરની તૈયારી
2. સમીયરનું ફિક્સેશન
3. પ્રાથમિક ડાઘની અરજી
4. મોર્ડન્ટની એપ્લિકેશન
5. વિકૃતિકરણ
6. કાઉન્ટર સ્ટેનિંગ

સ્મીયર બનાવવાની તૈયારી

સ્ટેનિંગ માટે સ્લાઇડની સપાટી પર બેક્ટેરિયાના પાતળા સ્તરને બેક્ટેરિયાના સ્મીયર કહેવામાં આવે છે. સ્મીયર તૈયાર કરતી વખતે, સ્લાઇડ્સ સ્વચ્છ અને ધૂળ અને મહેનતથી મુક્ત હોવી જોઈએ. સ્લાઇડને સાબુ અને શુધ્ધ પાણીથી સાફ કરવી જોઈએ અને લિન્ટ ફ્રી કાપડ અથવા કાગળથી સારી રીતે સૂકવી જોઈએ. સામાન્ય રીતે યુવાન બેક્ટેરિયલ ઉછેરો(16-24 કલાક જૂની) નો ઉપયોગ સ્ટેનિંગ માટે કરવામાં આવશે.

એ) બ્રોથમાંથી: બ્રોથનો એક લૂપફૂલ સ્વચ્છ સ્લાઇડ પર રાખો અને લગભગ 1 સે.મી. વ્યાસમાં ફેલાવો.

બી) મિડીયા પ્લેટ માં થી: જંતુરહિત અથવા સામાન્ય ખારા પાણી ના એક ટીપાને સ્લાઇડ પર મૂકો, લક્ષ્ય બેક્ટેરિયલ કોલોની પસંદ કરો અને કોલોનીના ઉપરના ભાગમાંથી બેક્ટેરિયલ સેલ એકત્રિત કરો. લૂપનો ઉપયોગ કરીને પાણી અને બેક્ટેરિયલ સેલનું પ્રવાહી મિશ્રણ બનાવો અને કાચની સ્લાઇડ પર કોષને પાતળા અને સમાન સ્તરમાં ફેલાવો.

સી) હવામાં સુકાવો.

ડી) બ્યુસેન બર્નરની વાદળી જ્યોતમાંથી , સ્લાઇડ પર, ઉપરની બાજુએ, સ્લાઇડને 3-4 વખત પસાર કરીને, સમીયરને ઠીક કરો.

સ્મીયરની જાડાઈ વિકૃતિકરણની ડિગ્રી નક્કી કરે છે અને આખરે ગ્રામ સ્ટેનિંગના પરિણામને અસર કરે છે.

સ્મીયરનું ફિક્સેશન

બેક્ટેરિયલ ઉછેર માઇક્રોસ્કોપિક સ્લાઇડ્સ પર કાં તો ગરમી દ્વારા અથવા મિથેનોલ જેવા રસાયણોનો ઉપયોગ કરીને સુધારેલ છે. મિથેનોલ ફિક્સેશન હોસ્ટ સેલ્સ તેમજ બેક્ટેરિયાની આકારશાસ્ત્રને સાચવે છે.

પ્રાથમિક સ્ટેનની અરજી

ક્રિસ્ટલ વાયોલેટ (સીવી) એ ગ્રામ સ્ટેનિંગમાં વપરાતા પ્રાથમિક સ્ટેન છે. જલીય ઉકેલોમાં ક્રિસ્ટલ વાયોલેટ (સીવી) સીવી+ અને ક્લિઅન્સમાં ભળી જાય છે. આ આયનો પછી બંને ગ્રામ-સકારાત્મક અને ગ્રામ-નકારાત્મક બેક્ટેરિયાના કોષ પટલ દ્વારા પ્રવેશ કરે છે. આ સીવી+ પછી બેક્ટેરિયલ સેલ દિવાલો અને જાંબુડાના સ્ટેનના નકારાત્મક ચાર્જ ઘટકો સાથે સંપર્ક કરે છે.

મોર્ડન્ટની અરજી

મોર્ડેન્ટ એક પદાર્થ છે જે ડાઘ માટે બેક્ટેરિયલ સેલ દિવાલના લગતાને વધારે છે. ગ્રામ સ્ટેનિંગમાં આયોડિનનો ઉપયોગ મોર્ડન્ટ તરીકે થાય છે જે ક્રિસ્ટલ વાયોલેટ-આયોડિન કોમ્પ્લેક્સ (સીવી-આઇ) બનાવે છે અને બેક્ટેરિયલ સેલની દિવાલમાં ફસાઈ જાય છે અને છેવટે બેક્ટેરિયાને જાંબુડિયા રંગ આપે છે.

વિકૃતિકરણ

આ પગલું ખરેખર ગ્રામ-સકારાત્મક અને ગ્રામ-નકારાત્મક બેક્ટેરિયાને અલગ પાડે છે. આલ્કોહોલ અથવા એસિટોનનો ઉપયોગ સ્ટેનિંગ પ્રક્રિયા દરમિયાન ડીકોલોરાઇઝેશન માટે થાય છે. આલ્કોહોલ અથવા એસિટોન પેપ્ટીડોગ્લાયકેન સ્તરને ખુલ્લી પાડતા ગ્રામ નેગેટિવ બેક્ટેરિયાના જાડા લિપિડ સ્તરને ઓગાળી દે છે પરિણામે સીવી- 1 સંકુલ પછી પેપ્ટીડોગ્લાયાનથી ધોવાઇ જાય છે આખરે ગ્રામ નકારાત્મક બેક્ટેરિયાને રંગહીન બનાવે છે. બીજી તરફ કાર્બનિક દ્રાવક જેવા કે આલ્કોહોલ અને એસીટોન ગ્રામ હકારાત્મક બેક્ટેરિયાના કોષને ડિહાઇડ્રેટ કરે છે જે પેપ્ટીડોગ્લાયકેન સ્તરના સંકોચન તરફ દોરી જાય છે જે સીવી- 1 સંકુલ જાળવી રાખે છે અને જાંબુડિયા રંગને જાળવી રાખે છે.

કાઉન્ટર સ્ટેનિંગ

કાઉન્ટર સ્ટેનિંગનો ઉપયોગ ગ્રામ નકારાત્મક બેક્ટેરિયાના રંગહીન કોષોને રંગ આપવા માટે કરવામાં આવે છે જે અન્યથા દેખાઈ ન શકે. સેફ્રાનિન સામાન્ય રીતે ઉપયોગમાં લેવાતા કાઉન્ટરસ્ટેઇન છે. કેટલીકવાર સેફ્રાનિનને બદલે બેઝિક ફુશ્ચિનનો ઉપયોગ પણ કરવામાં આવે છે.

સેફ્રાનિન બેક્ટેરિયલ સેલને ગુલાબી રંગમાં ડાઘ પાડે છે પરંતુ ગ્રામ પોઝિટિવ બેક્ટેરિયામાં ગુલાબી રંગ સ્ફટિક વાયોલેટના જાંબુડિયા રંગથી માસ્ક કરે છે , તેથી ગ્રામ સ્ટેનિંગમાં ગ્રામ નેગેટિવ બેક્ટેરિયા ગુલાબી રંગ લેશે અને ગ્રામ પોઝિટિવ બેક્ટેરિયા જાંબુડિયા રહે છે.

ગ્રામ સ્ટેનિંગનું કાર્યકારી પ્રોટોકોલ

- એક મિનિટ માટે વિપુલ પ્રમાણમાં ક્રિસ્ટલ વાયોલેટ સ્ટેનિંગ રિએજેન્ટવાળા બેક્ટેરિયલ સેલ્સના હવામાં સૂકા ગરમીના નિશ્ચિત સ્મીયરને સ્ટેન કરો.
- નળના પાણીના નરમાળ પરોક્ષ પ્રવાહમાં સ્લાઇડ પર વધુ ડાઘને ધોઈ લો.
- સ્લાઇડમાં ગ્રામના આયોડિનથી પૂર અને એક મિનિટ રાહ જુઓ.
- નળના પાણીના નરમાશ પરોક્ષ પ્રવાહમાં સ્લાઇડને ધોવા.

- સ્લાઇડને ડીકલરાઇઝિંગ એજન્ટ (95% ઇથેનોલ) થી ધોવા જ્યાં સુધી સ્લાઇડમાંથી ડીકલરાઇઝિંગ સોલ્યુશન સ્પષ્ટ ન થાય ત્યાં સુધી.
- સ્લાઇડ્સને કાઉન્ટરસ્ટેઇન, સેફરાનિનથી પૂર. લગભગ એક મિનિટ રાહ જુઓ.
- સ્લાઇડને વહેતા પાણીમાં ધોઈ નાખો ત્યાં સુધી સ્લાઇડમાંથી સોલ્યુશન સ્પષ્ટ ન થાય ત્યાં સુધી શોષક કાગળ અથવા એર ડ્રાય વડે સ્લાઇડને પુછો.
- તેજસ્વી ફીલ્ડ માઇક્રોસ્કોપનો ઉપયોગ કરીને તેલ નિમજ્જન (100X) હેઠળ સ્લાઇડ અવલોકન કરો.

યાદ રાખવાની બાબતો:

- ગ્રામ સ્ટેનિંગ એ વિભેદક સ્ટેનિંગ પ્રક્રિયા છે જે બેક્ટેરિયાને બે જૂથોમાં અલગ કરે છે અને તે કોષની દિવાલની રચના પર આધારિત છે.
- ગ્રામ સકારાત્મક બેક્ટેરિયામાં જાડા કોષની દિવાલ હોય છે, જે મુખ્યત્વે પેપ્ટીડોગાયકન સ્તરો (90%) થી બનેલા હોય છે - તે જાંબુડિયા રંગના હોય છે.
- ગ્રામ નેગેટિવ બેક્ટેરિયામાં કોષની દિવાલ પાતળી હોય છે, તેમાં મુખ્યત્વે લિપિડ લેયર હોય છે અને ખૂબ જ પાતળા પેપ્ટિડોગ્લાઇકન લેયર (10%) હોય છે - તે ગુલાબીથી લાલ રંગના હોય છે.
- ગ્રામ સ્ટેનિંગનો ઉપયોગ કરીને લગભગ તમામ બેક્ટેરિયાને વિઝ્યુઅલાઈઝ કરી શકાય છે પરંતુ તેમાં થોડા અપવાદો છે

i) બેક્ટેરિયા કે જે ફક્ત યજમાન કોષોમાં રહે છે (ઇન્ટ્રા સેલ્યુલર બેક્ટેરિયા) દા.ત. ક્લેમીડીઆ જોઇ શકાતા નથી.

ii) સેલની દિવાલ વગરના બેક્ટેરિયા ગ્રામ સ્ટેનિંગ દ્વારા જોઇ શકાતા નથી. દા.ત. માયકોપ્લાઝ્મા

****

બેક્ટેરિયલ ઉછેરોની ગતિશીલતા પરીક્ષણ

આશિષકુમાર ઝા

સજીવ અથવા બેક્ટેરિયલ સેલની જાતે જ આગળ વધવાની ક્ષમતાને ગતિશીલતા કહેવામાં આવે છે. મોટાભાગના બેક્ટેરિયા , બેક્ટેરિયા માટે અનન્ય ફ્લેજેલા તરીકે ઓળખાતા લોમોમોટર એપેન્ડેજ દ્વારા અથવા ગતિશીલતાના ગ્લાઇડિંગ સ્વરૂપનું નિર્માણ કરતી વિશેષ ફાઇબ્રીલ્સ દ્વારા ફરે છે. બેક્ટેરિયલ ફ્લેજેલા એ થ્રેડ છે જેમ કે પ્લાઝ્મા મેમ્બ્રેન અને કોષની દિવાલથી બાહ્ય ભાગ સુધીના વિસ્તરણો. બેક્ટેરિયામાં એક અથવા બહુવિધ ફ્લેજેલા હોઈ શકે છે. વર્ગીકરણ પ્રજાતિના તફાવત અને બેક્ટેરિયાના રોગકારક લાક્ષણિકતા માટે ગતિશીલતા પરીક્ષણ કરવામાં આવે છે. માઇક્રોબાયોલોજીના ક્ષેત્રના શરૂઆતના દિવસોથી , બેક્ટેરિયાની ગતિશીલતા સજીવના તફાવત અને વર્ગીકરણના માધ્યમ તરીકે ઉપયોગમાં લેવાય છે.

ફ્લેજેલાની સંખ્યા અને સ્થિતિના આધારે, બેક્ટેરિયાને 4 મુખ્ય જૂથોમાં વર્ગીકૃત કરવામાં આવે છે:

1. એકવિધ: કોષના એક છેડેથી વિસ્તરેલ એક જ ફ્લેગેલમ. (વિબ્રિઓ કોલેરા , કેમ્પાયલોબેસ્ટર એસપીપી.).

2. એમ્ફીટ્રિકોસ: કોષના બંને છેડાથી વિસ્તરેલ એક જ ફ્લેગેલમ. (અલ્કાલિજેન્સ ફેક્લિસ).

3. લોફોટ્રિકોસ: ફ્લેજેલા જેવા કેટલાક ટ્યૂફ્ટ સેલના એક અથવા બંને છેડા (સ્પિરીલા એસપીપી) થી વિસ્તરી શકે છે.

4. પેરીટ્રિકોસ: મલ્ટીપલ ફ્લેજેલા બધા બેક્ટેરિયલ સેલમાં ફેલાય છે (સાલ્મોનેલ્લા ટાઇફી , એસ્ચેર્ચીયા કોલી, પ્રોટીઅસ એસપીપી.).

ગતિશીલતા પરીક્ષણ પદ્ધતિ

ગતિશીલતા નિર્ધાર માટે મોટે ભાગે બે અલગ અલગ પદ્ધતિઓનો ઉપયોગ થાય છે:

1) સ્લાઇડ પદ્ધતિ

એ) ભીની માઉન્ટ પદ્ધતિ

બી) અટકી પડતી પદ્ધતિ

2) સોફ્ટ અગાર સ્ટેબિંગ

સ્લાઇડ પદ્ધતિનો ઉપયોગ સામાન્ય રીતે બિન રોગકારક જીવો માટે થાય છે જ્યાંરે અગાર પદ્ધતિનો ઉપયોગ પેથોજેનિક સજીવ માટે થાય છે.

ગતિશીલતા નિર્ધારણ માટે ભીની માઉન્ટ સ્લાઇડ પદ્ધતિ એ સૌથી સરળ પદ્ધતિ છે. આ પદ્ધતિમાં, ઉછેરની થોડી આંટીઓ સ્વચ્છ સ્લાઇડ પર મૂકવામાં આવી છે અને તેને કવરસ્લિપથી

ઢાકેલી હોય છે. કવરસ્લિપની ચાર બાજુ એક નાનો જથ્થો પેટ્રોલિયમ જેલી લાગુ કરો , કવરસ્લિપની મધ્યમાં ઉછેરનો એક ટીપું મૂકો , નરમાશથી કવરસ્લિપ પર એક માઇક્રોસ્કોપિક સ્લાઇડ મૂકો અને કેન્દ્રને દબાવ્યા વિના ચારેય ધારને ચુસ્ત સીલ કરો. કાળજીપૂર્વક સ્લાઇડને ધુંચત્તુ કરો અને સ્લાઇડને માઇક્રોસ્કોપ હેઠળ અવલોકન કરો.

સાવચેતી: બ્રાઉનીયન ગતિ બેક્ટેરિયલ સેલની ગતિશીલતા સાથે મૂંઝવણમાં ન હોવી જોઈએ. બ્રાઉનીયન ચળવળ એ આજુબાજુના પાણીની બોમ્બમાળાને કારણે જીવંત નૃત્ય અને જીવંત ઉછાળો છે.

ફાયદો

તે સરળ છે અને આકાર અને સેલ્યુલર ગોઠવણી હદ સુધી સચવાય છે.

ગેરફાયદો

આ પદ્ધતિ જોખમી છે તેથી પ્રાધાન્ય માત્ર બિન રોગકારક બેક્ટેરિયા માટે વપરાય છે.

અટકી પડતી પદ્ધતિ

આ પદ્ધતિ સામાન્ય આકાર અને બેક્ટેરિયલ સેલની ગોઠવણીમાં જ્યારે તેઓ એક સાથે જોડાશે ત્યારે નિરીક્ષણ કરવામાં ઉપયોગી છે.

કાર્યવાહી

- કવરસ્લિપ લો, કવરસ્લિપની ધાર પર પેટ્રોલિયમ જેલીનો પાતળો પડ લગાવો.
- કવરસ્લિપની મધ્યમાં એક લૂપ ફુલ કલ્ચર મૂકો , જંતુરહિત પાણીનો એક ટીપો ઉમેરો.
- ડિપ્રેસન સ્લાઇડ લો અને તેને ડ્રોપ પર એવી રીતે મૂકો કે સ્લાઇડનો અંતરાળ ભાગ ડ્રોપ પર પડેલો છે.
- ધારને નરમાશથી દબાવીને સ્લાઇડને કવરસ્લિપ ઉપર ઠીક કરો.
- ટીપાંને અવ્યવસ્થિત કર્યા વિના સ્લાઇડને ધીમેથી અને ઝડપથી પલટાવો.
- સ્લાઇડને માઇક્રોસ્કોપમાં મૂકો અને તેલ નિમજ્જનના ઉદ્દેશ્યમાં સૌથી ઓછા વિસ્તરણ હેઠળ તેનું અવલોકન કરો.

ફાયદા

- આ પદ્ધતિમાં બેક્ટેરિયલ કોષોનો આકાર અને ગોઠવણી સચવાય છે.
- બધી બાજુથી સીલ મારવાને કારણે સૂકવણીની પ્રક્રિયા પણ ધીમી પડી જાય છે.

ગેરફાયદા

- પેથોજેનિક સજીવ માટે આ પદ્ધતિનો ઉપયોગ કરવો જોખમી છે.

સોફ્ટ અગાર સ્ટેબિંગ (ટ્યુબ પદ્ધતિ)

આ ગતિશીલતા પરીક્ષણની તુલનાત્મક રીતે સલામત પદ્ધતિ છે. આ પદ્ધતિમાં બેક્ટેરિયમની ગતિશીલતા અર્ધવિરામ અગારમાં નક્કી કરવામાં આવે છે. આ પદ્ધતિ માટે વપરાયેલ માધ્યમ એ ગતિશીલતા પરીક્ષણનું માધ્યમ છે. માધ્યમમાં ટ્રિપ્ટોઝ બેક્ટેરિયલ ચયાપચય માટે જરૂરી વૃદ્ધિ પોષક તત્વોના સ્રોત તરીકે સેવા આપે છે. સોડિયમ ક્લોરાઇડ માધ્યમની ઓસ્મોટિક સંતુલન જાળવે છે. નાની માત્રામાં અગાર અર્ધવિરામયુક્ત માધ્યમ બનાવવામાં મદદ કરે છે. સેવન પછીના નળીઓની તપાસ દ્વારા બેક્ટેરિયલ ગતિશીલતા સીધી અવલોકન કરી શકાય છે. ઇનોક્યુલેશન માધ્યમની મધ્યમાં હુમલો કરીને કરવામાં આવે છે. 18-40 કલાક માટે યોગ્ય તાપમાને ઉકાળો. બિન-ગતિશીલ જીવો ફક્ત ઇનોક્યુલેશનની લાઇન સાથે વધે છે જ્યારે ગતિશીલ જીવો ઇનોક્યુલેશનની લાઇનથી દૂર વધે છે અથવા તે માધ્યમ દરમિયાન પણ વૃદ્ધિ દર્શાવે છે. બધા નબળા અથવા ઓક્વોકસલ ગતિશીલતાના પરિણામોની પુષ્ટિ ફ્લેજેલમ ડાઘ દ્વારા અથવા અટકીને છોડવાની પદ્ધતિ દ્વારા કરવી જોઈએ.

પદ્ધતિની મર્યાદાઓ

- જો ગરમી અથવા શારીરિક ગેરસમજને લીધે બેક્ટેરિયાના ફ્લેજેલાને નુકસાન થાય છે , તો પરીક્ષણ ખોટું નકારાત્મક પરિણામ આપશે.
- નબળા ગતિશીલ સજીવો પણ ખોટા નકારાત્મક પરિણામ આપી શકે છે.
- સેમિસોલિડ મીડિયામાં , ઇનોક્યુલેટીંગ લૂપને બરાબર ઉભી એટલે કે ઇનોક્યુલેશનની સમાન લાઇનમાં દૂર કરવું મહત્વપૂર્ણ છે અન્યથા એક ચાહક ગતિ સ્ટેબલાઇનની વૃદ્ધિમાં પરિણમી શકે છે જે ખોટા હકારાત્મક પરિણામ આપે છે.

બેક્ટેરિયાનું સ્વારર્મિંગ

જીવાણુઓની હિલચાલના પ્રકારમાં અત્યંત ગતિશીલ બેક્ટેરિયા દ્વારા પ્રદર્શિત થાય છે. આ બેક્ટેરિયા પોષક તત્વો શોધવા માટે નક્કર અગાર પર પણ આગળ વધી શકે છે. જો આ પ્રકારની બેક્ટેરિયલ ઉછેર અગાર પ્લેટની મધ્યમાં જડવામાં આવે છે અને પ્લેટ સેવામાં આવે છે, તો બેક્ટેરિયા પરિમિતિ તરફ જવાનું શરૂ કરે છે. આ ચળવળ દરમિયાન દરેક બેક્ટેરિયા પોષક તત્વોને શોષી લે છે અને કદમાં વધારો કરે છે અને અમુક અંતર પર ગયા પછી વહેંચે છે અને પછી સંતાન બહાર જવાનું શરૂ કરે છે. આ પ્રકારની હલનચલન અ ગાર પ્લેટ પર એકાગ્ર રિંગ્સની રચનાનું કારણ બને છે , અન્યથા સ્વોર્મ્સ તરીકે ઓળખાય છે. આ પદ્ધતિનો ઉપયોગ જનરેશન સમયના અંદાજ માટે પણ કરી શકાય છે. પ્રોટીઅએસ એસ.પી.પી. બેક્ટેરિયાના સ્વારર્મિંગ પ્રકારનું શાસ્ત્રીય ઉદાહરણ છે.

****

માઇક્રોબિયલ પરિમાણો માટે સીફૂડનું નમૂનાકરણ

રમ્યા.એસ

પરિચય

પરીક્ષા માટે પ્રાપ્ત નમૂના અથવા નમૂનાના પર્યાપ્તતા અને સ્થિતિનું પ્રાથમિક મહત્વ છે. જો નમૂનાઓ અયોગ્યરૂપે એકત્રિત કરવામાં આવે છે અને ખોટી રીતે વેચાણ કરવામાં આવે છે અથવા નમૂનાવાળી લોટના પ્રતિનિધિ નથી , તો પ્રયોગશાળાના પરિણામો અર્થહીન રહેશે. કારણ કે ખાદ્ય પદાર્થોની મોટી માલ વિશેના અર્થઘટનો લોટના પ્રમાણમાં નાના નમૂના પર આધારિત છે, સ્થાપિત નમૂના પદ્ધતિઓ સમાનરૂપે લાગુ થવી આવશ્યક છે. જ્યારે પેથોજેન્સ અથવા ઝેર ખોરાકમાં ભાગ્યે જ વિતરિત કરવામાં આવે છે અથવા જ્યારે કોઈ ખોરાકના વહાણનો નિકાલ કાયદાકીય ધોરણના સંબંધમાં દર્શાવવામાં આવેલા બેક્ટેરિયલ સામગ્રી પર આધારિત હોય ત્યારે એક પ્રતિનિધિ નમૂના આવશ્યક છે.

સૂક્ષ્મ જીવોની માપદંડો પર ફરજિયાત આવશ્યકતાઓ , નમૂનાઓ, યોજનાઓ અને વિશ્લેષણની પદ્ધતિઓ સહિત , ખાદ્ય પદાર્થો (2073/2005) ના સુક્ષ્મજીવોના માપદંડ પર 15નવેમ્બર 2005 ના કમિશન રેગ્યુલેશન (ઇસી) નંબર 2073/2005 માં આપવામાં આવી છે.

નમૂના લેવું

- નમૂના લેવા માટે કોઈ વિશિષ્ટ આંતરરાષ્ટ્રીય અથવા કાનૂની ધોરણો ન હોવાના કિસ્સામાં, આગ્રહણીય છે કે પ્રયોગશાળા અને સંબંધિત પક્ષો અગાઉથી સમજૂતી કરે.
- આવા કિસ્સાઓમાં , આઇએસઓના સુસંગત ધોરણો અને કોડેક્સ એલિમેન્ટરીઅસના માર્ગદર્શિકાનો સંદર્ભ કોડ તરીકે ઉપયોગ કરવો જોઇએ , જેમ કે કોડેક્સ એલિમેન્ટરીઅસ: નમૂના અંગેના સામાન્ય માર્ગદર્શિકા , સીએસી/જીએલ 50-2004; આઇએસઓ 7218, એનએમકેએલ (ફૂડ એનાલિસિસ પર નોર્ડિક કમિટી) પ્રક્રિયા નંબર 12: ફુડ્સના વિશ્લેષણ માટે નમૂના લેવા માટેની માર્ગદર્શિકા (www.nmkl.org). આઇએસઓ 18593 એ પ્રોસેસિંગ વિસ્તારો અને ઉપકરણોના નમૂના લેવા માટેની ઇયુ સંદર્ભ નમૂનાની પદ્ધતિ છે.

નમૂના લેવાની પદ્ધતિઓ

- નમૂનાઓ નિયંત્રિત અને લેબલ થયેલ હોવી જ જોઇએ કે જેથી તેમની કાનૂની અને વિશ્લેષણાત્મક માન્યતા બંનેની ખાતરી આપી શકાય.
- સત્તાવાર નિયંત્રણ માટે , તે મહત્વપૂર્ણ છે કે પ્રયોગશાળાને તે ઉત્પાદનનો સાચી નમૂનાનો પ્રતિનિધિ મળે કે જે પરિવહન અથવા સંગ્રહ દરમિયાન નુકસાન થયું નથી અથવા બદલાયું નથી.

- અયોગ્ય નમૂનાઓ ખોટા નકારાત્મક અથવા ખોટા હકારાત્મક પરિણામો તરફ દોરી શકે છે.
- જ્યારે પણ શક્ય હોય ત્યારે નમૂનાઓ મૂળ ન ખુલેલા કન્ટેનરમાં પ્રયોગશાળામાં સુપરત કરવામાં આવે છે , અથવા પ્રતિનિધિ ભાગોને એસેપ્ટીક પરિસ્થિતિઓમાં જંતુરહિત કન્ટેનરમાં સ્થાનાંતરિત કરવામાં આવે છે.
- નમૂના લેવાનું હંમેશાં જંતુરહિત નમૂનાના સાધનોનો ઉપયોગ અને એસેપ્ટીક તકનીકનો ઉપયોગ કરીને થાય છે.
- નમૂનામાં ઉપયોગમાં લેવાતા કન્ટેનર સ્વચ્છ, સુકા, લીક-પ્રૂફ, વિશાળ મોંવાળા, જંતુરહિત અને ઉત્પાદનના નમૂનાઓ માટે યોગ્ય કદના હોવા જોઈએ.
- જંતુરહિત પ્લાસ્ટિક બેગ (ફક્ત સૂકા , અસ્થિર સામગ્રી માટે) અથવા પ્લાસ્ટિકની બોટલ , લાઇન નમૂનાઓ માટે ઉપયોગી કન્ટેનર છે.
- દરેક નમૂના એકમ માસ્કિંગ ટેપની યોગ્ય રીતે ચિહ્નિત પટ્ટી સાથે ઓળખાવા જોઈએ.
- જ્યારે પણ શક્ય હોય ત્યારે , દરેક નમૂનાના એકમ માટે ઓછામાં ઓછું 100 ગ્રામ મેળવવું જોઈએ.
- પ્લાસ્ટિક પર લાગણીશીલ પેનનો ઉપયોગ કરશો નહીં કારણ કે શાહી કન્ટેનરમાં ઘૂસી શકે છે.
- જંતુરહિત કન્ટેનરના ખુલ્લા અને બંધ નિયંત્રણો નમૂના સાથે સબમિટ કરવા જોઈએ.
- નમૂના સંગ્રહસ્થાનની શક્યતાઓ લગભગ શક્ય તેટલી જાળવણી સાથે , પ્રયોગશાળાને તાત્કાલિક પહોંચાડવા જોઈએ.
- નમૂનાઓના પરિવહન માટે , તેઓને શરતો હેઠળ રાખવું જોઈએ , જે હાજર સુક્ષ્મસજીવોની સંખ્યામાં ફેરફારને અટકાવે છે.
- પરિવહનના સૌથી ઝડપી માધ્યમોને પ્રાધાન્ય આપવું જોઈએ.
- ફ્રોઝન અથવા રેફ્રિજરેટેડ ઉત્પાદનો ના પરિવહન માટે માન્ય ઇન્સ્યુલેટેડ કન્ટેનરમાં પરિવહન કરવામાં આવે છે, જેથી તેઓ યથાવત પ્રયોગશાળા પર પહોંચશે.
- ફ્રોઝન નમૂનાઓ પૂર્વ-ઠંડા કન્ટેનરમાં એકત્રિત કરવામાં આવશે.
- રેફ્રિજરેટેડ નમૂનાઓ બરફમાં 0-4°સે. તાપમાને ઠંડુ થવું જોઈએ , અને યોગ્ય રેફ્રિજન્ટ સાથે નમૂનાનું પરિવહન કરવું જોઈએ, જેનો પ્રયોગશાળા સુધી આગમન થાય ત્યાં સુધી 0-4 ડિગ્રી સે. તાપમાન નિયંત્રણ હોવુ જોઇએ.
- પ્રવાહી નમૂનાઓ એકત્રિત કરતી વખતે , તાપમાન નિયંત્રણ તરીકે એક વધારાનો નમૂના લેવો જોઈએ.

- નિયંત્રણ નમૂનાના તાપમાનને સંગ્રહ કરતી વખતે અને પ્રયોગશાળા પર રસીદ પર તપાસવું જોઈએ.
- સંગ્રહ અને પ્રયોગશાળામાં બધા નમૂનાઓના આગમનના સમય અને તારીખની નોંધ લેવી જોઈએ.
- સુકા અથવા તૈયાર ખોરાક, કે જેનો નાશ કરવો યોગ્ય નથી અને આસપાસના તાપમાને એકત્રિત કરવામાં આવે છે તેને રેફ્રિજરેટર કરવાની જરૂર નથી.
- નીચેનું સંગ્રહ તાપમાન અવલોકન કરવું જોઈએ:
  - તાજા અને રેફ્રિજરેટેડ ઉત્પાદનો માટે 0 અને 4°સે વચ્ચેનો તાપમાન,
  - નીચે સ્થિર અથવા ઠંડા થીજેલા ઉત્પાદનો માટે -18° સે થી ઓછું,
  - તાજી માછલી અને સંવેદનશીલ ઉત્પાદનો માટે 0 થી 2° સે. વચ્ચે,
  - 0 થી 4° સે. વચ્ચે સ્થિર એકમો બગડેલ છે અને બંધ પેકેજિંગમાં પરિવહન છે.

નમૂનાનું સત્કાર અને સંચાલન

- લેબોરેટરીમાં આવેલ નમૂનાની સારી રીતે તપાસ કરવી જોઈએ.
- જો નમૂનાઓ અપૂરતા છે અથવા તેમની સ્થિતિ અસંતોષકારક છે , તો પ્રયોગશાળાએ નમૂનાઓનો ઇનકાર કરવો જોઈએ.
- સ્વીકૃત નમૂનાઓ દસ્તાવેજીકરણ થયેલ છે.
- સ્ટોરેજની રાહ જોતા નમૂનાઓ હાજર સુક્ષ્મસજીવોની સંખ્યામાં કોઈ ફેરફારને અટકાવવા માટે સંગ્રહિત કરવા જોઈએ.
- સંગ્રહસ્થાનનું યોગ્ય તાપમાન હોવું મહત્વપૂર્ણ છે , અને પરીક્ષાની સમયમર્યાદા રાખવા માટે, દા.ત. પ્રાપ્તિ પછી 24 કલાકની અંદર તાજા અને રેફ્રિજરેટેડ ઉત્પાદનો માટે; લાંબા સમય સુધી સ્ટોરેજ સમયગાળા માટે તરત જ -18° સે.
- પ્રયોગશાળા પર પ્રાપ્તિ પછી , વિશ્લેષકે નમૂનાની સામાન્ય શારીરિક સ્થિતિની નોંધ લેવી જોઈએ.
- જો નમૂનાનું તાત્કાલિક વિશ્લેષણ કરી શકાતું નથી, તો તે સંગ્રહિત થવું જોઈએ.
- પરીક્ષણ સુધી નમૂનાઓ -20° સે. પર સંગ્રહ કરો.
- 0 થી 4° સે. અપ્રમાણિત નાશ પામેલા નમૂનાઓ રેફ્રિજરેટ કરો પણ 36 કલાકથી વધુ નહીં.
- વિશ્લેષણ થાય ત્યાં સુધી નાશ પામેલા , તૈયાર, અથવા ઓછા ભેજવાળા ખોરાક ઓરડાના તાપમાને સંગ્રહિત થાય છે.
- કન્ટેનરને ફ્રીઝરમાં મૂકો જેથી તેમને સારી રીતે ઠંડક મળી શકે.
- ફ્રોજન નમૂનાઓ હંમેશાં મજબૂત રીતે સ્થિર રાખો.

- રેફ્રિજરેટેડ ઉત્પાદનો ફ્રોજન ન કરો.
- અન્યથા નિર્દિષ્ટ ન થાય ત્યાં સુધી , સંગ્રહ કર્યા પછી રેફ્રિજરેટેડ નમૂનાઓનું વિશ્લેષણ 36 કલાકની અંદર કરવું જોઈએ.

નમૂનાની તૈયારી

- નમૂનાઓની તૈયારી આના યોગ્ય ભાગો (માછલી અને સીફૂડને લાગુ પડે છે) અનુસાર કરવાની રહેશે:
    - ઇએન આઇએસઓ 6887-1: ખોરાક અને પ્રાણીઓને ખોરાક આપવાની સામગ્રીની માઇક્રોબાયોલોજી - પ્રારંભિક સસ્પેન્શનની અને સૂક્ષ્મજીવાણિક પરીક્ષા માટે દશાંશ વિસર્જનની તૈયારી - ભાગ 1: પ્રારંભિક સસ્પેન્શન અને દશાંશ પાતળાની તૈયારી માટેના સામાન્ય નિયમો
    - આઇએસઓ 87-38787--3: ખોરાક અને પ્રાણીઓને ખોરાક આપવાની સામગ્રીની માઇક્રોબાયોલોજી - પરીક્ષણ નમૂનાઓ તૈયાર કરવા, પ્રારંભિક સસ્પેન્શન અને માઇક્રોબાયોલોજીકલ પરીક્ષા માટે દશાંશ પાતળા ભાગ - ભાગ: માછલી અને મત્સ્યઉદ્યોગ ઉત્પાદનોની તૈયારી માટેના ચોક્કસ નિયમો
    - આઇએસઓ 7218: ખોરાક અને પ્રાણીઓને ખોરાક આપવાની સામગ્રીની માઇક્રોબાયોલોજી - સામાન્ય જરૂરિયાતો અને સુક્ષ્મજીવાણિક પરીક્ષાઓ માટે માર્ગદર્શન.
- જ્યારે ઉત્પાદનને હેન્ડલ કરતા હો ત્યારે, એસેપ્ટિક તકનીકનો હંમેશા ઉપયોગ થાય છે.
- નમૂનાનું સંચાલન અથવા વિશ્લેષણ કરતા પહેલા , તાત્કાલિક અને આસપાસના કાર્ય વિસ્તારોને સાફ કરવું આવશ્યક છે.
- આ ઉપરાંત, તાત્કાલિક કાર્યક્ષેત્રને વ્યાપારી જંતુનાશક એજન્ટથી બદલવું જોઈએ.
- પ્રાધાન્ય, સ્થિર નમૂનાઓ વિશ્લેષણ પહેલાં પીગળી ન જોઈએ.
- જો જરૂરી હોય તો , વિશ્લેષણાત્મક ભાગ મેળવવા માટે કોઈ સ્થિર નમૂનાને થ્રિજાવા માટે, તેને મૂળ કન્ટેનરમાં અથવા તે કન્ટેનરમાં કે જે પ્રયોગશાળામાં પ્રાપ્ત થયો છે તેમાં પીગળી દો.
- જ્યારે પણ શક્ય હોય ત્યારે નમૂનાને પીગળવા માટે બીજા કન્ટેનરમાં સ્થાનાંતરિત કરવાનું ટાળવું જોઈએ.
- સામાન્ય રીતે, એક ફ્રોજન નમૂનો 18 કલાકની અંદર 2-5° સે. પર પીગળી જાય છે.
- સુક્ષ્મસજીવોના અસમાન વિતરણના વિવિધ ડિગ્રી કોઈપણ ખોરાકના નમૂનામાં અપેક્ષિત છે.

- વધુ વિતરણની ખાતરી કરવા માટે, પ્રવાહી નમૂનાઓ સંપૂર્ણ રીતે હલાવવા જોઈએ અને જો વ્યવહારુ હોય તો, 100 ગ્રામ અથવા તેથી વધુના નમૂનામાંથી વિશ્લેષણાત્મક એકમ પાછી ખેંચતા પહેલાં સૂકા નમૂનાઓ જંતુરહિત ચમચી અથવા અન્ય વાસણોનો ઉપયોગ કરીને મિશ્ર કરવો જોઈએ.
- એરોબિક પ્લેટ ગણતરી મૂલ્ય અને કોલિફોર્મ્સના એમપીએન નક્કી કરવા માટે પ્રવાહી અથવા શુષ્ક ખોરાકના 50 ગ્રામના વિશ્લેષણાત્મક એકમનો ઉપયોગ થાય છે.
- બિજા વિશિષ્ટ વિશ્લેષણના આધારે અન્ય વિશ્લેષણાત્મક એકમના કદ (દા.ત. , સાલ્મોનેલા માટે 225 ગ્રામ) ની ભલામણ કરવામાં આવી શકે છે.
- ઉપયોગમાં લેવાયેલી પદ્ધતિ દ્વારા ભલામણ મુજબ વિશ્લેષણાત્મક એકમના કદ અને નમ્ર વોલ્યુમનો ઉપયોગ કરો.
- જો પેકેજની સામગ્રી સ્પષ્ટ રીતે એકરૂપ નથી , તો પેકેજની સંપૂર્ણ સામગ્રીને ગુપ્ત રીતે અને વિશ્લેષણાત્મક એકમ પાછો ખેંચી લે , અથવા, પ્રાધાન્યરૂપે, પરીક્ષણના હેતુને આધારે, ખોરાકના દરેક ભાગને અલગથી વિશ્લેષણ કરો.
- હાઇ સ્પીડ બ્લેન્ડર અથવા સ્ટોમેચરના ઉપયોગ દ્વારા નમૂનાઓ તૈયાર કરી શકાય છે.
- બ્લેન્ડરનો ઉપયોગ કરવાના કિસ્સામાં, હાઇ-સ્પીડ બ્લેન્ડર જારને તોડવું; તો પછી સુગમ અને સચોટ (± 0.1 ગ્રામ) વજન વગરનું અને (જો ફ્રોજન હોય તો) જારમાં.
- જો સંપૂર્ણ નમૂનાનું વજન જરૂરી રકમ કરતા ઓછું હોય, તો નમૂનાના અડધા ભાગની સમકક્ષ ભાગનું વજન કરો અને તે મુજબ પાતળા અથવા બ્રોથનું પ્રમાણ સમાયોજિત કરો.
- બ્લેન્ડરના કુલ વોલ્યુમમાં બ્લેડને સંપૂર્ણપણે આવરી લેવું આવશ્યક છે.
- મિકેનિકલ મિશ્રણ ઉપકરણો દ્વારા નમૂનાની તૈયારી માટે , આવશ્યકતાઓ એક જંતુરહિત ગ્લાસ અથવા મેટલ હાઇસ્પીડ બ્લેન્ડર જાર સાથે કવર , બેલેન્સ, જંતુરહિત બીકર્સ , જંતુરહિત ગ્રેજ્યુએટેડ પાઇપટ્સ , છરીઓ, કાંટો, સ્પેંચુલાસ, ફોર્સેપ્સ, કાતર, ચમચી અને જીભ ડિપ્રેસર્સ છે (નમૂનાનું હેન્ડલિંગ કરવા માટે).

સંદર્ભ

1. ખાદ્યપદાર્થોના સુક્ષ્મજીવોના માપદંડ પર 15 નવેમ્બર 2005 ના રોજ કમિશન રેગ્યુલેશન (ઇસી) નં. 2073/2005.

2. વોલેસ એચ. એન્ડ્રયુઝ અને થોમસ એસ. હેમૈક. 2003. પ્રકરણ 1. નમૂનાના હોમોજેનેટનું ફૂડ સેમ્પલિંગ અને તૈયારી. બેક્ટેરિઓલોજિકલ એનાલિટીકલ મેન્યુઅલ (બીએએમ). યુએસએફડીએ (ફૂડ એન્ડ ડ્રગ એડમિનિસ્ટ્રેશન).

****

પ્લેટિંગ તકનીક દ્વારા સુક્ષ્મસજીવોની ગણતરી

આશિષકુમાર ઝા

સ્વચ્છતા ખોરાક અથવા માછલીના ઉત્પાદન તેમજ પ્રક્રિયા પ્રણાલીમાં મુખ્ય ભૂમિકા નિભાવે છે. સુક્ષ્મસજીવો જેવા કે બેક્ટેરિયા , વાયરસ, યીસ્ટ્સ, મોલ્ડ વગેરે ખોરાકને બગાડે છે અને માનવ સ્વાસ્થ્ય માટે જોખમ લાવી શકે છે. વિશિષ્ટ બેક્ટેરિયાની હાજરી અને ખોરાક અથવા માછલીમાં તેમની સાંદ્રતા સલામતીના જોખમો , તેમની બગાડવાની સંભવિતતા અને ઉત્પાદનોની ઇચ્છિત ગુણવત્તાની ખાતરી કરવા માટે અને તેના નિયંત્રણ માટે નિર્ધારિત હોવી જોઈએ.

ફૂડ માઇક્રોબાયોલોજીમાં, બેક્ટેરિયાને ચેપી એજન્ટોમાં, ખોરાકમાં જન્મેલા નશોના કારણો, બગાડ અને પ્રોસેસિંગ એઇડ્સમાં વહેંચી શકાય છે. કોઈપણ ખાદ્ય પદાર્થના બેક્ટેરિયાની સંખ્યા ગુણવત્તાના સંચાલન માટેની ચાવી છે. બેક્ટેરિયાની કુલ સંખ્યા તાજગી સૂચવે છે અને ખાદ્ય વસ્તુનું શેલ્ફ લાઇફ પણ નિર્ધારિત કરે છે.
બેક્ટેરિયાના ગણતરીની વિવિધ પદ્ધતિઓ છે, જેમાં શામેલ છે,

1. કોષોની સીધી ગણતરી

એ) ગણતરી ચેમ્બરનો ઉપયોગ કરીને સીધી ગણતરી

બી) ફ્લોરોસન્સનો ઉપયોગ કરીને સીધી ગણતરી

2. પરોક્ષ ગણતરી

એ) વ્યવહારુ ગણતરી / કુલ પ્લેટ ગણતરી

બી) સૌથી સંભવિત નંબર (MPN)

3. માઇક્રોબાયલ સમૂહનું સીધું માપન

4. માઇક્રોબાયલ સમૂહનું પરોક્ષ માપન

સુક્ષ્મસજીવોના અલગતા અને ગણતરી માટે પ્લેટિંગની વિવિધ પદ્ધતિઓનો ઉપયોગ થાય છે. સામાન્ય રીતે ઉપયોગમાં લેવામાં આવતી પ્લેટિંગ પદ્ધતિઓ નીચે મુજબ છે

1. સ્ટ્રીક પ્લેટ પ્રક્રિયા
2. પોર પ્લેટ પ્રક્રિયા
3. સ્પ્રેડ પ્લેટ પ્રક્રિયા
4. નરમ અગાર ઓવરલે પ્રક્રિયા
5. પ્રતિકૃતિ પ્લેટ પ્રક્રિયા

એરોબિક પ્લેટ કાઉન્ટ (એપીસી) અથવા પ્રમાણભૂત પ્લેટની ગણતરી , જેને કુલ સધ્ધર ગણતરી, કુલ મેસોફિલિક ગણતરી અથવા કુલ બેક્ટેરિયલ ગણતરી તરીકે ઓળખવામાં આવે છે, તે ખોરાકની સુક્ષ્મજીવાણિક ગુણવત્તાને સૂચવવા માટે લાગુ કરવામાં આવતી એક સામાન્ય પરીક્ષણ પદ્ધતિ છે.

કુલ પ્લેટ ગણતરી માટે સામાન્ય રીતે ઉપયોગમાં લેવાતી પદ્ધતિઓ છે

એ) સ્પ્રેડ પ્લેટ પદ્ધતિ

b) પોર પ્લેટ પદ્ધતિ

પ્લેટ પદ્ધતિ ફેલાવો

આ પદ્ધતિનો ઉપયોગ અગાર પ્લેટની સપાટી પર ફેલાવીને નાના વોલ્યુમમાં રહેલા બેક્ટેરિયાને અલગ કરવા માટે થાય છે. જ્યારે બેક્ટેરિયાની યોગ્ય સાંદ્રતા પ્લેટ કરવામાં આવે છે, ત્યારે સમાનરૂપે વિતરિત ડિસક્રિટ કોલોની રચાય છે.

સાધનો અને સામગ્રી

એ. લેમિનાર ફ્લો/જંતુરહિત કાર્યકારી ક્ષેત્ર.

બી. 1-એમએલ અને 10-એમએલ ક્ષમતાના માઇક્રોપિપેટ્સ અને સમાન ક્ષમતાવાળા જંતુરહિત પિપેટ્સ ટીપ્સ અથવા ગ્લાસ પિપેટ્સ

સી. જંતુરહિત છરીઓ, કાંટો, સ્પેટ્યુલા, ફોરસેપ્સ, કાતર, ચમચી

ડી. મોર્ટાર અને પેસ્ટલ અથવા સ્ટોમાચર બ્લેન્ડર અને બેગ

ઇ. જંતુરહિત પાતળા (બટરફિલ્ડનું ફોસ્ફેટ-બફર કરેલ નબળાઇ પાણી)

એફ. જંતુરહિત પ્લેટ ગણતરી અગાર (પીસીએ)

જી. જંતુરહિત (એલ આકારના) સ્પ્રેડર

એચ. ઇન્ક્યુબેટર, 35 ± 1 ° સે

આઇ. ઇલેક્ટ્રોનિક વજન કાંટો (0.1 ગ્રામની સંવેદનશીલતા)

ડાયલુંટ્ટની તૈયારી (બટરફિલ્ડની ફોસ્ફેટ-બફરર્ડ ડાલ્યુશન વોટર)

- પોટેશિયમ ડાયહાઇડ્રોજન ફોસ્ફેટ (KH_2PO_4) : 34 ગ્રામ
- નિસ્યંદિત પાણી : 500 મિલી
- 1એન એનએઓએચ સાથે પીએચને 7.2 માં સમાયોજિત કરો.
- નિસ્યંદિત પાણી સાથે 1 લિટર પર વોલ્યુમ લાવો.
- 121° સે પર 15 મિનિટ માટે વંધ્યીકૃત.
- રેફ્રિજરેટરમાં સ્ટોર કરો.

- ઉપરના સ્ટોક સોલ્યુશનના 1.25 મિલી લો અને નિસ્યંદિત પાણી સાથે વોલ્યુમ 1 લિટર પર લાવો.
- બોટલ/ફ્લાસ્કમાં 90 ± 1 મિલી સુધી વહેંચો.
- 121° સે પર 15 મિનિટ વંધ્યીકૃત.

પીસીએ અગાર પ્લેટોની તૈયારી

- ઉકળતા વોટરબાથમાં પીસીએના બે ફલાસ્ક્સ ઓગાળવું અને 45-50°C સુધી ઠંડું કરો.
- 10-12 પેટ્રિપ્લેટ્સમાં રેડવું (પેટ્રિપ્લેટ્સ દીઠ આશરે 15-18 મિલી).
- પીસીએ સેટ કરવાની મંજૂરી આપો
- 56 °C પર પેટ્રી પ્લેટને ઉંધી સ્થિતિમાં અથવા સીધા 45 મિનિટ માટે લેમિનર ફ્લો ચેમ્બરમાં મૂકીને અગારની સપાટીને સુકાવી દો.
- પ્લેટોને ઓરડાના તાપમાને ઠંડુ કરો.

નમૂના હોમોજિનેટનું નમૂનાકરણ અને તૈયારી

1. જંતુરહિત રીતે 50 ગ્રામ માછલી/ઝીંગા એક જંતુરહિત નમૂના ડીશમાં વજન કરો.
2. 50 ગ્રામ નમૂનાને સ્ટોમેચર બેગમાં સ્થાનાંતરિત કરો અને 450 મિલી વંધ્યીકૃત પાતળા (બટરફિલ્ડ્સ ફોસ્ફેટ-બફર ડાઇલ્યુશન વોટર) ઉમેરો અને સ્ટોમેચર માં 2 મિનિટ માટે મિશ્રણ કરો. આ પરિણામ 10^{-1} ની ડાઇલુશનમાં પરિણમે છે.
3. અલગ જંતુરહિત પિપેટ્સનો ઉપયોગ કરીને , ઉપરોક્ત 10^{-1} માંથી 10 મિલીને જંતુરહિત 90 મિલી નિસ્યંદિત પાણીમાં સ્થાનાંતરિત કરો અને સારી રીતે ભળી દો. આ 10^{-2} મંદન આપે છે.
4. પછી ઉપરોક્ત 10^{-2} મંદનથી 10 મિલી સ્થાનાંતરિત કરો જંતુરહિત 90 મિલી સુધી અને સારી રીતે ભળી દો. આ 10^{-3} મંદન આપે છે
5. એ જ રીતે નમૂનાના માઇક્રોબાયલ લોડના આધારે વધુ ડાઇલુશન (10^{-4} અને 10^{-5} વગેરે) તૈયાર કરો.

પદ્ધતિ

- ડુપ્લિકેટમાં 3 લાઇનોમાં છ પૂર્વ-સેટ પીસીએ પ્લેટો ગોઠવો
- પ્લેટોને યોગ્ય રીતે લેબલ કરો (નમૂનાનું નામ, મીડિયા, ડાઇલુશન અને તારીખ)
- ડુપ્લિકેટ્સમાં અગાર પ્લેટની સપાટીના કેન્દ્રમાં , ઇચ્છિત પાતળા (10^{-3}, 10^{-4} અને 10^{-5}) માંથી 0.5 એમએલ બહાર પીપેટ. આલ્કોહોલમાં ડૂબેલા જંતુરહિત એલ-આકારના ગ્લાસ સ્પ્રેડર લો અને તેને બન્સન બર્નર પર જ્યોત કરો.

સ્પ્રેડરને હવામાં ઠંડુ થવા દો. ઠંડક માટે સ્પ્રેડરને હલાવો નહીં. પેટ્રિડિશ ફેરવીને જંતુરહિત કાચ સ્પ્રેડરનો ઉપયોગ કરીને અગારની સપાટી પર સમાનરૂપે નમૂનાને ફેલાવો. 48± 2 કલાક માટે 35 ડિગ્રી સેલ્સિયસ પર પ્લેટને સેવન કરો. ક્યુબેક કોલોની કાઉન્ટરનો ઉપયોગ કરીને કોલોનીની સંખ્યા ગણો. ડુપ્લિકેટ પ્લેટોમાં વસાહતોની સંખ્યા 10% કરતા વધુ હોવી જોઈએ નહીં.

નોંધ: જો લીધેલ નમૂના મિ.મી. છે, તો કોલોનીઓની સંખ્યાની ગણતરી દરમિયાન , કોલોની ની સરેરાશ ગણતરી બમણી કરવી પડશે.

સ્પ્રેડ પ્લેટ પદ્ધતિની મર્યાદાઓ

1) સખત એરોબ્સ તરફેણ કરવામાં આવે છે જ્યાં માઇક્રોએરોફિલિક ધીમી વધે છે.
2) કેટલીક વાર કોલોનીઓની ભીડ ગણના કરવી મુશ્કેલ બનાવે છે.

પોર પ્લેટ પદ્ધતિ

આ પદ્ધતિમાં એક બ્રોથ/નમૂનામાંથી ઇનોનોક્યુલમની સામાન્ય રકમ (સામાન્ય રીતે 1 એમએલ) જંતુરહિત પીપેટનો ઉપયોગ કરીને જંતુરહિત પેટ્રિડિશની મધ્યમાં મૂકવામાં આવે છે. પીગળેલા ફૂલ્ડ અગાર(45°C) પર લગભગ 15-18 મિલી પછી ઇનોક્યુલમ ધરાવતા પેટ્રિડિશમાં રેડવામાં આવે છે અને પ્લેટોને ફેરવીને મીડિયાને સારી રીતે મિશ્રિત કરવામાં આવે છે. ખાતરી કરો કે મીડિયા પ્લેટ ઉપર ન ફેલાય. અગારને 48±2 કલાક માટે 35 ડિગ્રી સેલ્સિયસ સુધી મજબૂત થવાની મંજૂરી આપો.

પદ્ધતિ

1) ડુપ્લિકેટ્સમાં 3 લાઇનોમાં 6 પેટ્રિડિશ ગોઠવો અને યોગ્ય રીતે લેબલ કરો
2) જંતુરહિત પેટ્રિપ્લેટની મધ્યમાં 1 મી.લી. ઇચ્છિત ડાઇલુશન (10^{-3}, 10^{-4} અને 10^{-5}) નાખો.
3) 15-18 મિલી પીગળેલા ફૂલ્ડ અગાર (45 ± 1°સે.) ના નમૂનાઓ ધરાવતા પેટ્રિડિશમાં રેડવું.
4) પીગળેલા અગારના ઉમેરા પછી, કવર મૂકો અને સપાટ સપાટી પર પ્લેટોની પાછળ અને આગળ ગતિ દ્વારા નમૂનાના પાતળા અને અગાર માધ્યમને સંપૂર્ણપણે અને સમાનરૂપે ભળી દો.
5) અગારને મજબૂત બનાવવાની મંજૂરી આપો. સોલિડાઇફ પેટ્રિડિશને ઉંધી કરો , અને 35±2°સે. પર 48±2 કલાક માટે સેવન કરો.

મર્યાદાઓ

1) તુલનાત્મક ગરમ અગારનો ઉપયોગ સંવેદનશીલ બેક્ટેરિયાને મારી શકે છે.
2) નાની કોલોનીઓની અવગણના થઈ શકે છે.
3) અગરની ઊંડાઈમાં ફરજવાળા એરોબ્સનો વિકાસ દર ઘટાડવો.

સાવચેતીનાં પગલાં

25-250 કોલોની સાથેની પ્લેટ લો. સ્પ્રેડર ફ્રી પ્લેટ પસંદ કરો. બધા કોલોની બનાવતા એકમો (સીએફયુ) ની ગણતરી કરો , જેમાં પિનપોઇન્ટ સાઇઝનો સમાવેશ થાય છે. રેકોર્ડ ડાઇલુશન વપરાયેલ અને કોલોનીની કુલ સંખ્યા.

અંકોની રાઉંડિંગ

પ્લેટ કાઉન્ટ્સ (એપીસી/ટીપીસી) ની ગણતરી કરતી વખતે ચોકસાઈ અને ચોકસાઈ વિશેની ખોટી છાપ ટાળવા માટે , પ્રથમ બે નોંધપાત્ર અંકોની જાણ કરવાનો રિવાજ છે , અને બીજો અંક આગામી ત્રીજા અંક 6,7 છે ત્યારે આગામી ઉચ્ચતમ સંખ્યામાં વધારો કરીને ગોળાકાર છે. 8 અથવા 9 અને બીજા અંકથી જમણી તરફના દરેક ક્રમિક અંક માટે શૂન્યનો ઉપયોગ કરો. જ્યારે ત્રીજો અંક 1, 2, 3 અથવા 4 હોય ત્યારે ગોળ ડાઉન કરો , ત્રીજો અંક 5 હોય તો, જ્યારે બીજો આંકડો વિચિત્ર હોય અને ગોળાકાર હોય, જ્યારે બીજો અંક સમાન હોય.

ગણતરી કરેલ ગણતરી	ટીપીસી/એપીસી
1,57,000	1,60,000
1,54,000	1,50,000
1,55,000	1,60,000
1,45,000	1,40,000

ગણતરી

1. જ્યારે ડુપ્લિકેટ પ્લેટની ગણતરીઓ 25-250 ની રેન્જમાં આવે છે

એપીસી/ગ્રામ નમૂનાની સૂત્રનો ઉપયોગ કરીને ગણતરી કરવામાં આવે છે.

$$\text{એપીસી/જી નમૂના (એન)} = \frac{\Sigma C}{[(1X n_1) + (0.1X\ n_2)\ X\ (d)]}$$

જ્યાં

એન = નમૂનાના ગ્રામ/મિલી દીઠ એકમો બનાવતા કોલોનીની સંખ્યા

ΣC = બધી પ્લેટો પરની તમામ કોલોનીઓનો સરવાળો

n1 = પ્રથમ ડાઇલ્યુશન માં પ્લેટોની સંખ્યા

n2 = બીજા ડાઇલ્યુશન માં પ્લેટોની સંખ્યા

ડી = ડિલ્યુશન જેમાંથી પ્રથમ ગણતરીઓ મળી હતી

ઉદાહરણ

1:100	1:1000	1:10000
TNTC	220	30
TNTC	230	35

ΣC= 220+230+30+35=515; $\mathbf{n_1}$= 2; $\mathbf{n_2}$= 2; **d**= 1:1000 (10^{-3})

$$\frac{515}{[(1X2) + (0.1X\ 2)\ X\ (10^{-3})} = \mathbf{2,34,090 \approx 2,30,000}$$

2. જ્યારે બધી પ્લેટોની ગણતરી 25 સીએફયુ કરતા ઓછી હોય

જ્યારે બંને ડાઇલુશનમાંથી પ્લેટો પ્રત્યેક 25 સીએફયુ કરતાં ઓછી મળે છે , ત્યારે વાસ્તવિક પ્લેટની ગણતરી રેકોર્ડ કરે છે પરંતુ ગણતરીને 25x1/ડી કરતા ઓછી રેકોર્ડ કરે છે જ્યાં ડી એ ડાઇલુશન છે જ્યાંથી પ્રથમ ગણતરીઓ પ્રાપ્ત થઈ છે.

ઉદાહરણ

1:100	1:1000	અંદાજિત એરોબિક પ્લેટ કાઉન્ટ (EAPC)
12	4	**< 250**
16	2	

3. જ્યારે બધી પ્લેટોની ગણતરી 250 સીએફયુ કરતા વધારે હોય

જ્યારે બધી ડાઇલુશનમાંથી પ્લેટો દરેક 250 થી વધુ સીએફયુ પ્રાપ્ત કરે છે (પરંતુ 100/સે.મી.થી ઓછી) પછી પ્લેટની ગણતરી (ઇએપીસી)ની નજીકની પ્લેટ પરથી અંદાજ કાઢવો જોઈએ અને પ્લેટ ના અરીયા દ્વારા ગુણાકાર કરવો જોઈએ.

ઉદાહરણ

1:100	1:1000	1:10000	અંદાજિત એરોબિક પ્લેટ કાઉન્ટ(EAPC)
TNTC	700	290	**280,0000**
TNTC	650	280	

4. જ્યારે બધી પ્લેટો સ્પ્રેડર અને અથવા લેબોરેટરી અકસ્માત સાથે હોય છે

તેને સ્પ્રેડર (એસપીઆર), અથવા પ્રયોગશાળા અકસ્માત તરીકેની જાણ કરો.

5. જ્યારે સરેરાશ 100 અથવા વધુ સીએફયુ સાથેની બધી પ્લેટો ચોરસ સે.મી.

તમામ પ્લેટોમાં 100 સીએફયુ/ચોરસ સે.મી.થી વધુની ગણતરીના કિસ્સામાં પછી પ્લેટની ગણતરી પ્લેટના ક્ષેત્ર દ્વારા ગુણાકાર કરવામાં આવેલા સૌથી વધુ ડાઇલુશન કરતા 100 ગણા વધારે હોવી જોઈએ.

ઉદાહરણ: ચોરસ સે.મી. દીઠ કોલોનીની સરેરાશ સંખ્યા 120 ની સંખ્યા દર્શાવતી પ્લેટો

1:100	1:1000	અંદાજિત એરોબિક પ્લેટ કાઉન્ટ(EAPC)
TNTC	7800[a]	>6500000
TNTC	7080[b]	>5900000

a65 ચોરસ સે.મી.ના પ્લેટ ક્ષેત્રના આધારે; b59 ચોરસ સે.મી.ના પ્લેટ ક્ષેત્રના આધારે

****

સીફૂડમાંથી એસ્ચેરીચીયા કોલી, ટોટલ એન્ટરોબેક્ટેરિયાસી અને ફેકલ સ્ટ્રેપ્ટોકોકીને અલગ અને ઓળખ

અનુપમા ટી.કે.

1. એસ્ચેરીચીયા કોલી

એસ્ચેરીચીયા કોલી, મૂળ બેક્ટેરિયમ કોલી કોમ્યૂન તરીકે ઓળખાય છે , 1885 માં જર્મન બાળ ચિકિત્સક, થિયોડર એશેરીચ દ્વારા ઓળખવામાં આવી હતી. ઇ કોલી વ્યાપકપણે મનુષ્ય અને ગરમ લોહીવાળા પ્રાણીઓના આંતરડામાં વહેંચાય છે. ઇ કોલી એ એંટોરોબેક્ટેરિયાસી કુટુંબનો સભ્ય છે , જેમાં સાલ્મોનેલા , શિંગેલા અને યર્સિનિયા જેવા ઘણા જાણીતા પેથોજેન્સ શામેલ છે. ઇ કોલીના મોટાભાગના જાતોને પેથોજેન્સ તરીકે ગણવામાં આવતું નથી ; તેઓ તકવાદી પેથોજેન્સ હોઈ શકે છે જે ઇમ્યુનોકોમપ્રોમિઝ્ડ યજમાનોમાં ચેપનું કારણ બને છે. ઇ કોલીના પેથોજેનિક તાણ પણ છે કે જ્યારે ઇન્જેસ્ટ કરવામાં આવે છે , ત્યારે તંદુરસ્ત માણસોમાં જઠરાંત્રિય બીમારી થાય છે. ઇ. કોલી માનવ અને પ્રાણીઓના મળમાં વિપુલ પ્રમાણમાં હોય છે અને તે સામાન્ય રીતે અન્ય માળખામાં જોવા મળતું નથી. તેથી , ખોરાકમાં ઇ કોલીની હાજરી ફેકલ દૂષણના સૂચક તરીકે માનવામાં આવે છે.

એ) ઝીંગા/માછલીના નમૂનાના ડાઇલુશન બનાવવાની તૈયારી

- 25 ગ્રામ માછલી/ઝીંગાને લેમિનાર ચેમ્બરની જ્યોતની બાજુમાં જંતુરહિત રીતે જંતુરહિત નમૂનાની ડીશમાં વજન કરો.
- 25 ગ્રામ નમૂનાને સ્ટોમેચર બેગમાં સ્થાનાંતરિત કરો અને સ્ટોમેચર બ્લેન્ડરનો ઉપયોગ કરીને 225 મિલી વંધ્યીકૃત ડાઇલુશન (બટરફિલ્ડના ફોસ્ફેટ-બફર ડાઇલુશન વોટર) સાથે સમાંતર કરો. પરિણામે સજાતીય સામગ્રી 1:10 ડાઇલુશન છે.
- જુદા જુદા જંતુરહિત પિપેટ્સનો ઉપયોગ કરીને , 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} અને અન્ય યોગ્ય તરીકેના દશાંશ ડાઇલુશન તત્વો તૈયાર કરો , અગાઉના ડાઇલુશનના 1 મિલીલીટરને 9 મિલી ડાઇલુશન રૂપે સ્થાનાંતરિત કરીને.

બી) પગલું 1: ઇ કોલી માટે પૂર્વગામી પરીક્ષણ

વપરાયેલ માધ્યમો: ટરજીટોલ-7 અગાર.

- ટરજીટોલ-7 અગાર(T7) ને ફ્લાસ્કમાં 100 મિલી પાણીમાં ઓગાળિ અને 50° સે. સુધી ઠંડુ કરો.
- ચોકસાઇથી ટી 7 અગારમાં 1% જંતુરહિત (2,3,5- ટ્રિફેનાઇલ ટેટ્રાઝોલિયમ ક્લોરાઇડ (ટીટીસી) ના 0.3 મિલી ઉમેરો.

- દરેક જંતુરહિત પેટ્રી ડીશમાં (15-20 મિલી) રેડવું.
- 45 મિનિટ માટે તાપમાન સેટ કરો અને સુકાવા દો અને ઓરડાના તાપમાને ઠંડું કરો.
- દરેક ડાઇલુશન ટી-7 અગારની સપાટી પરના વિવિધ સ્થળોએ પિપેટની મદદથી 0.5 મિલી. ઉમેરો.
- વંધ્યીકૃત બેન્ટ ગ્લાસ સળિયાનો ઉપયોગ કરી ડાઇલુશનને અગારની સપાટી પર ફેલાવો.
- 18-24 કલાક માટે 37° સે તાપમાને ઇંન્કુબેટ કરો.
- ટી-7 ની પ્લેટો પર ઇ કોલીની લાક્ષણિક કોલોનીઓ ચૂનો પીળો રંગની જેમ દેખાય છે, કેટલીકવાર તે કાટ ભુરો રંગ અને આસપાસ પીળો ઝોન હોય છે (નોંધ: પીળી પાતળી, ઉભી અથવા બહિર્મુખ વસાહતોને ઇ.કોલી કોલોનીઓ તરીકે ગણવામાં આવતી નથી). ડુપ્લિકેટ પ્લેટોની સરેરાશ લો.

ગણતરી:

ઇ. કોલી/ગ્રામ = **સરેરાશ ગણતરી X ડાઇલ્યુશન ફેક્ટર X 2**

2) પગલું 2: ઇ કોલી માટે પુષ્ટિ પરીક્ષણ

ઇ કોલીની પુષ્ટિ માટે, નીચેની કાર્યવાહીનું પાલન કરવું પડશે

1. **ઇઓસીન-મિથિલિન બ્લુ (ઇએમબી) અગાર પર સ્ટ્રીક**

- ઇએમબી અગારનો 100 મિલી ફ્લાસ્ક ઓગાળવો, 50° સે ઠંડુ કરો, જંતુરહિત પેટ્રી ડીશમાં રેડવું અને સેટ થવા દેવું , 45 મિનિટ માટે 56° સે. પર સુકાવો. ઓરડાના તાપમાને ઠંડુ થવા દો.
- જંતુરહિત લૂપ સાથે ટી- 7 ની પ્લેટોમાંથી લાક્ષણિક પીળી કોલોનીઓ લો અને સ્ટ્રીક-ડાઇલ્યુશન પદ્ધતિ દ્વારા, ઇએમબી પ્લેટો પર સ્ટ્રીક કરો; 18-24 કલાક માટે 35° સે± 0.5°સે પર ઇંક્યુબેટ કરો.
- ઇએમબી અગાર પરની કોલોનીઓ લીલોતરી ધાતુના ચમક સાથે 2- 3 મીમી વ્યાસની જેમ દેખાય છે , જેના દ્વારા પ્રસારિત પ્રકાશ અને શ્યામ જાંબલી કેન્દ્રને પ્રતિબિંબિત કરવામાં આવે છે.
- પ્રત્યેક ઇએમબી પ્લેટથી પીસીએ સ્લાંટમાં 5 શંકાસ્પદ કોલોનીઓ લો અને 18-24 કલાક માટે 35 ± 0.5° સે તાપમાને ઇંક્યુબેટ કરો.

1. **આઇએમવીઆઇસી પરીક્ષણો**

ઉપરોક્ત પીસીએ સ્લાંટમાંથી, નીચેના મિડિયામાં ઇનોક્યુલેટ કરો.

(એ) ટ્રિપ્ટોન બ્રોથ: ટ્રિપ્ટોન બ્રોથ માટે ઇનોક્યુલેટ કલ્ચરને 24 ± 2 કલાક અને તાપમાન 35°± 0.5 ડિગ્રી સે. પર ઇંક્યુબેટ કરો.
(બી) એમઆરવીપી માધ્યમ: દરેક ઉછેરને એમઆરવીપી માધ્યમની 2 ટ્યુબમાં ઇનોક્યુલેટ કરો અને 48±2 કલાક પર 35±0.5 ડિગ્રી સેલ્સિયસ તાપમાન પર ઇંક્યુબેટ કરો.
(સી) સિમ્મન્સ સિટ્રેટ અગાર: સિમોન્સ સાઇટ્રેટ અગાર સ્લેંટમાં કલ્ચર સ્ટ્રીક કરીને તેને 48-96 કલાક માટે 35° ± 0.5 ડિગ્રી સે. પર ઇંક્યુબેટ કરો.

પરિણામો

(એ) ટ્રિપ્ટોન બ્રોથ

કોવાકના ઇન્ડોલ રીએજન્ટને 0.2-0.3 મિલી ઉમેરીને ઇન્ડોલ ઉત્પાદન માટે પરીક્ષણ કરો. ટોચ પર લાલ અથવા ગુલાબી રંગ હકારાત્મક પરીક્ષણ સૂચવે છે. ઇન્ડોલે કોવાકના રીએજન્ટના પી-ડાઇમિથાઇલ એમિનો બેંજલડિહાઇડ સાથે લાલ રંગ બનાવ્યો.

(બી) એમઆરવીપી માધ્યમ

<u>**એમ.આર. પરીક્ષણ:**</u> એક ટ્યુબમાં , મિથાઈલ લાલ સૂચકના 5 ટીપાં ઉમેરો. લાલ રંગ હકારાત્મક એમઆર પરીક્ષણ સૂચવે છે. ઇ.કોલી એસિડ ઉત્પન્ન કરવા માટે ગ્લુકોઝને આથો આપે છે, જે મિથાઈલ લાલ સૂચકના લાલ રંગ દ્વારા સૂચવેલા માધ્યમનું પીએચ નીચે 4.4 કરતા ઓછું લાવે છે. જો રંગ નારંગી હોય , તો પીએચ 5.0-5.8 છે અને પીળો હોય તો પીએચ 6.0 કરતા વધારે હોય છે.

<u>વી.પી.પરીક્ષણ:</u> બીજી ટ્યુબમાંથી ઉછેરના 1 મિલીનો ઉપયોગ કરીને , α-નેફ્થોલ સોલ્યુશનના 0.6 મિલી અને 40% કેઓએચની 0.2 મીલી ઉમેરીને વીપી પરીક્ષણ કરો. ક્રિએટાઇનના થોડા સ્ફટિકો ઉમેરો. હલાવો અને તેને 2 કલાક ઉભા રહેવા દો. ઇઓસિન ગુલાબી રંગ સકારાત્મક વી.પી. પરીક્ષણ સૂચવે છે.

3. સિમ્મન્સ સિટ્રેટ અગાર: લીલાથી વાદળી સુધીના માધ્યમના રંગમાં ફેરફાર એ બેક્ટેરિયલ ઉછેર દ્વારા સાઇટ્રેટના ઉપયોગ માટે સકારાત્મક પરીક્ષણ સૂચવે છે. ઇ કોલી સાઇટ્રેટનો ઉપયોગ કરતા નથી અને તેથી નકારાત્મક પ્રતિક્રિયા આપે છે.

નીચે આપેલ પરિણામો આપતા ઉછેરોની પુષ્ટિ ઇ. કોલી તરીકે થાય છે

ઇન્ડોલ	પોઝિટિવ
મિથાઇલ રેડ	પોઝિટિવ
વી.પી.	નેગેટિવ
સાઇટ્રેટ	નેગેટિવ

IMViC: + + - -

1. કુલ એન્ટરોબેક્ટેરિયાસી ગણતરી

એન્ટરોબેક્ટેરિયાસી, જેમાં ક્લેબિસેલા , સાલ્મોનેલા, શિંગેલા અને ઇ કોલીનો સમાવેશ થાય છે તે મહત્વનું બિન-દેશી દૂષણો છે , જે પ્રાણીઓ , પક્ષીઓ અને માણસોના દૂષણના પરિણામે ઉત્પાદનો પર થાય છે. તેઓ મહિનાઓ સુધી પણ ઉત્પાદનો અને પ્રક્રિયાના ક્ષેત્રમાં લાંબા સમય સુધી ટકી શકે છે. મુખ્ય દૂષિત માર્ગ માછલીઓ , વાસણો અને ઉપકરણોની બિનઆરોગ્યપ્રદ હેન્ડલિંગથી અથવા બરફ જેવા પાણી અથવા પાણીના વાતાવરણમાંથી છે. એન્ટરોબેક્ટેરિયાસીય દૂષણના નિયંત્રણમાં, ખોરાકની સંભાળ રાખનારાઓને આરોગ્યપ્રદ જાગૃતિ સાથે, સારી આરોગ્યપ્રદ પ્રથા અને ઉપકરણોની જાળવણી કરવી જરૂરી છે.

પદ્ધતિ

મીડિયા વાપરેલ: વાયોલેટ રેડ બાઇલ ગ્લુકોઝ અગર (વીઆરબીજીએ)

- **25** ગ્રામ માછલી/ઝીંગાને કાતરથી નમૂનાના ભાગમાંથી કાપવામાં આવે છે અને **225** એમએલના જંતુરહિત ડાઇલુયંટ (બટરફિલ્ડ્સ ફોસ્ફેટ-બફર ડાઇલ્યુશન વોટર) થી સ્ટોમેચર અથવા મોર્ટાર અને પેસ્ટલમાં મેસેરેટેડ કરવામાં આવે છે. જરૂર મુજબ સીરીયલ ડાઇલ્યુશન બનાવો. પોર પ્લેટ તકનીક અનુસરવામાં આવે છે.
- 10^{-2} અને 10^{-3} ડાઇલ્યુશનમાંના દરેકને એક એમએલ જંતુરહિત પેટ્રી પ્લેટો પર પીપેટ કરવામાં આવે છે અને પીગળેલા વીઆરબીજીએના **18-20** મીલી રેડવામાં આવે છે.
- પ્લેટોને **18-24** કલાક માટે **37°C** પર સેટ કરી ઉંધી રાખી અને ઇંક્યુબેટ કરવામાં આવે છે.
- એન્ટરોબેક્ટેરિયાસી કોલોની તરીકે લાલ , નાની (**2-4** મીમી વ્યાસ) કોલોનીની ગણતરી કરો. ડુપ્લિકેટ પ્લેટોની સરેરાશ ગણતરી લો.

કુલ એન્ટરોબેક્ટેરિયાસી ગણતરી/ગ્રામ = સરેરાશ ગણતરી **X** ડાઇલ્યુશન ફેક્ટર.

3. ફેકલ સ્ટ્રેપ્ટોકોકી

ફેકલ સ્ટ્રેપ્ટોકોકીને ફેકલ દૂષણના સૂચક તરીકે પણ માનવામાં આવે છે

પદ્ધતિ

માધ્યમ વપરાયેલ: કેન્નર ફેકલ સ્ટ્રેપ્ટોકોકી અગાર (કેએફ)

- **25** ગ્રામ માછલી/ઝીંગાને કાતરથી નમૂનાના ભાગમાંથી કાપીને , **225** એમએલના જંતુરહિત ડાઇલ્યુંન્ટ (બટરફિલ્ડ્સ ફોસ્ફેટ-બફર ડાઇલ્યુશન વોટર) થી સ્ટોમેચર અથવા મોર્ટાર અને પેસ્ટલમાં મેસેરેટેડ કરવામાં આવે છે. જરૂર મુજબ સીરીયલ ડાઇલ્યુશન બનાવો. પોર પ્લેટ તકનીક અનુસરવામાં આવે છે.

- **10^{-2}** અને **10^{-3}** ડાઇલ્યુશનમાંના પ્રત્યેક એક એમએલને જંતુરહિત પેટ્રી પ્લેટો પર પીપેટ કરવામાં આવે છે અને પીગળેલા કેએફના **18-20** મિલી રેડવામાં આવે છે. (નોંધ: પીગળેલા કેએફને **45°C** સુધી ઠંડુ કર્યા પછી, પ્લેટિંગ કરતા પહેલા **100** મિલી દીઠ **0.1%** ટ્રિફેનીલ ટેટ્રાઝોલિયમ ક્લોરાઇડ (ટીટીસી) ના **1** મિલી ઉમેરો.
- પ્લેટોને **36-48** કલાક માટે **37°**સે. પર સેટ કરવાની અને ઇંક્યુબેટ કરો.
- બધી સપાટી અને પેટા-સપાટી લાલથી ગુલાબી કોલોનીઓ (કેટલાક પાતળા સફેદ માર્જિન સાથે હશે) ને ફેકલ સ્ટ્રેપ્ટોકોકી તરીકે ગણો.

ફેકલ સ્ટ્રેપ્ટોકોસી ગણતરી/ગ્રામ = સરેરાશ ગણતરી X ડાઇલ્યુશન ફેક્ટર.

જો કુલ પ્લેટ કાઉન્ટ , ઇ. કોલી, કુલ એન્ટરોબેક્ટેરિયાસી ગણતરી અને ફેકલ સ્ટ્રેપ્ટોકોકી સમાન નમૂના સાથે કરવી હોય, તો પછી માત્ર એક જ વાર ડાઇલ્યુશન કરવું પડશે.

સીફૂડમાંથી કોલિફોર્મ અને ઇ.કોલીની અલગતા અને ઓળખ માટેની એમપીએન (સૌથી સંભવિત નંબર) પદ્ધતિ

- જંતુરહિત હાઇ-સ્પીડ બ્લેન્ડર જારમાં 50 ગ્રામ માછલીનું વજન કરો.
- ફ્રોઝન નમૂનાઓ <18 કલાક માટે 2- 5°સે. સ્ટોર કરીને નરમ થઈ શકે છે, પરંતુ ઓગાળશો નહીં.
- બટરફિલ્ડના ફોસ્ફેટ-બફર કરેલ પાણીના 450 મિલી ઉમેરો અને 2 મિનિટ માટે મિશ્રણ કરો.
- જંતુરહિત બટરફિલ્ડના ફોસ્ફેટ ડાઇલુશન અથવા સમકક્ષ સાથે દશાંશ ડાઇલુશન તૈયાર કરો.
- 3 ઓછામાં ઓછા સળંગ ડાઇલુશનનો ઉપયોગ કરીને, 3 નળીના એમ.પી.એન. વિશ્લેષણ માટે પ્રત્યેક ડાઇલુશનમાંથી 1 મિલી એલિકોટ્સ 3 એલએસટી (લૌરીલ ટ્રિપ્ટોઝ બ્રોથ) ટ્યુબમાં ઇનોક્યુલેટ કરો. લેક્ટોઝ બ્રોથ (એલબી) નો ઉપયોગ પણ થઈ શકે છે.

પગલું - 1 **એમપીએન - કોલિફોર્મ્સ માટે પૂર્વગામી પરીક્ષણ**

- 3 ટ્યુબ એમપીએન વિશ્લેષણ માટે દરેક ડાઇલુશનમાંથી 1 એમએલ એલિકોટ્સ 3 એલએસટી ટ્યુબમાં ઇનોક્યુલેટ કરો.
- એલ.એસ.ટી. ટ્યુબ ને 35 ± 0.5° સે. પર ઇન્ક્યુબેટ કરો.

- નળીઓની તપાસ કરો અને ગેસ માટે 24 ± 2 કલાકે રેકોર્ડ પ્રતિક્રિયાઓ, એટલે કે, જ્યારે ટ્યુબ નરમાશથી ઉત્તેજિત થાય છે ત્યારે આથોની શીશી અથવા ઇફેર્વેસન્સમાં માધ્યમનું વિસ્થાપન.
- વધારાના 24 કલાક માટે નકારાત્મક નળીઓને ફરીથી ઇન્ક્યુબેટ કરો અને 48± 3 કલાક પર ફરીથી પ્રતિક્રિયાઓનું નિરીક્ષણ કરો અને રેકોર્ડ કરો.
- તમામ પૂર્વધારણાત્મક સકારાત્મક (ગેસ) નળીઓ પર પુષ્ટિ પરીક્ષણ કરો.

પગલું - 2 એમપીએન - કોલિફોર્મ્સ માટે પુષ્ટિ પરીક્ષણ

- એલએસટી અથવા લેક્ટોઝ બ્રોથને સસ્પેન્શનની એક લૂપફૂલને બીજીએલબી (બ્રિલિયન્ટ ગ્રીન લેક્ટોઝ બાઇલ (બીજીએલબી) બ્રોથ, 2%) બ્રોથની ટ્યુબમાં સ્થાનાંતરિત કરો, પેલેકલ હોય તો અવગણવું. (આ સ્થાનાંતરણો માટે જંતુરહિત લાકડાના એપ્લીકેટર લાકડીનો ઉપયોગ પણ થઈ શકે છે).
- બી.જી.એલ.બી. નળીઓને 35±0.5°સે. તાપમાને સેવન(ઇન્ક્યુબેટ) કરો અને 48±3 કલાક ગેસ ઉત્પાદન માટે પરીક્ષણ કરો.
- નીચે આપેલા એમપીએન કોષ્ટક-1 થી સતત 3 ડાઇલ્યુશન માટે પુષ્ટિ થયેલ એલએસટી ટ્યુબ્સના પ્રમાણના આધારે કોલિફોર્મ્સની સૌથી સંભવિત સંખ્યા (એમપીએન) ની ગણતરી કરો.

પગલું - 3 એમપીએન - ફેકલ કોલિફોર્મ્સ અને ઇ કોલી માટે પુષ્ટિ પરીક્ષણ

દરેક હકારાત્મક એલ.એસ.ટી. અથવા લેક્ટોઝ બ્રોથ ટ્યુબમાંથી ગર્ભિત પરીક્ષણમાંથી, દરેક સસ્પેન્શનની એક લૂપુકુલને ઇસી બ્રોથની ટ્યુબમાં સ્થાનાંતરિત કરો (આ સ્થાનાંતરણ માટે એક જંતુરહિત લાકડાના એપ્લીકેટર સ્ટીકનો ઉપયોગ પણ થઈ શકે છે).

- ઇસી ટ્યુબ્સ 24 ± 2 કલાક અને 44.5°સે. તાપમાંકિત કરો અને ગેસના ઉત્પાદન માટે પરીક્ષણ કરો.
- જો નકારાત્મક હોય, તો ફરીથી એને 48±2 કલાક સુધી ફરીથી પરીક્ષણ કરો.
- એમપીએન કોષ્ટકમાંથી ફેકલ કોલિફોર્મ એમપીએન ની ગણતરી કરવા માટે આ પરીક્ષાનું પરિણામ વાપરો.

પગલું - 4 એમપીએન - ઇ કોલી માટે પૂર્ણ પરીક્ષણ

- ઇ.કોલી માટે પૂર્ણ પરીક્ષણ કરવા માટે, દરેક ગેસિંગ ઇસી ટ્યુબને નરમાશથી એજિટેટ કરો, એક લુપકુલ કોલોની ને એલ-ઇએમબી (લેવિન ઇઓસીન મિથિલિન બ્લુ) અગાર પ્લેટ પર અલગતા માટે સ્ટ્રિક કરો.
- 35°0.5 ડિગ્રી સેલ્સિયસ તાપમાને 18 થી 24 કલાક માટે સેવન(ઇન્ક્યુબેટ) કરો.

- શંકાસ્પદ ઇ.કોલિ ની કોલોની, એટલે કે, શ્યામ કેન્દ્રિત અને સપાટ, મેટાલિક ચમક્યા વિના અથવા વગરની પ્લેટોની તપાસ કરો.
- દરેક એલ-ઇએમબી પ્લેટમાંથી 5 જેટલી શંકાસ્પદ કોલોનીને પીસીએ (પ્લેટ કાઉન્ટ અગાર) સ્લેંટમાં સ્થાનાંતરિત કરો, તેમને 18-24 કલાક સુધી 35±0.5°સે. તાપમાને રાખો અને વધુ પરીક્ષણ માટે ઉપયોગ કરો.

પગલું - 5 – ઇ.કોલી માટે સૂચવેલ આઇએમવીઆઈસી પરીક્ષણ મુજબ પુષ્ટિ પરીક્ષણ અનુસરે છે

કોષ્ટક: 0.1, 0.01, અને 0.001 ગ્રામ ઇનોક્યુલમ સાથે 3 ટ્યુબ એમપીએન, (95% વિશ્વાસ અંતરાલો પર ગ્રામ દીઠ એમપીએન).

સકારાત્મક નળીઓ			એમપીએન/ગ્રામ	સકારાત્મક નળીઓ			એમપીએન/ગ્રામ
0.10	0.01	0.001		0.10	0.01	0.001	
0	0	0	< >	2	2	0	21
0	0	1	3.0	2	2	1	28
0	1	0	3.0	2	2	2	35
0	1	1	6.1	2	3	0	29
0	2	0	6.2	2	3	1	36
0	3	0	9.4	3	0	0	23
1	0	0	3.6	3	0	1	38
1	0	1	7.2	3	0	2	64
1	0	2	11	3	1	0	43
1	1	0	7.4	3	1	1	75
1	1	1	11	3	1	2	120
1	2	0	11	3	1	3	160
1	2	1	15	3	2	0	93
1	3	0	16	3	2	1	150
2	0	0	9.2	3	2	2	210
2	0	1	14	3	2	3	290
2	0	2	20	3	3	0	240
2	1	0	15	3	3	1	460
2	1	1	20	3	3	2	1100
2	1	2	27	3	3	3	>1100

સંદર્ભ

1. ફેંગ, પી., વેગન્ટ, એસ.ડી., ગ્રાન્ટ, એમ. એ. અને બુરખાર્ડ, ડબલ્યુ. (2002). બેક્ટેરિઓલોજિકલ વિશ્લેષણાત્મક મેન્યુઅલ, પ્રકરણ 4, યુએસએફડીએ.

2. સુરેન્દ્રન, પી.કે., થામપુરન, એન., નામ્બિયાર, વી.એન., લલિતા, કે.વી. અને જોસેફ , ટી.સી., 2013, સીફૂડની માઇક્રોબાયોલોજીકલ પરીક્ષા માટેની પ્રયોગશાળા તકનીકો. ચોથી આવૃત્તિ , સેન્ટ્રલ ઇન્સ્ટિટ્યૂટ Fફ ફિશરીઝ ટેક્નોલ .જી, કોચીન -682029, ભારત.

3. ફેંગ, પી., વેગન્ટ, એસ. ડી., ગ્રાન્ટ, એમ. એ., બુરખાર્ડ, ડબલ્યુ., શેલફિશ, એમ., અને પાણી, બી. (2018). બીએએમ: એસ્ચેરીચીયા કોલી અને કોલિફોર્મ બેક્ટેરિયા , પ્રકરણ 4) ની ગણતરી. બેક્ટેરિઓલોજિકલ વિશ્લેષણાત્મક માર્ગદર્શિકા. 2018 (ઓગસ્ટ 2020 માં પ્રવેશ).

****

પાણીમાં કોલિફોર્મ્સ નિર્ધારિત કરવાની પદ્ધતિ એમપીએન (સૌથી સંભવિત નંબર)

અનુપમા ટી.કે.

સૌથી વધુ સંભવિત નંબર (એમપીએન) પદ્ધતિ એ આંકડાકીય , મલ્ટિ-સ્ટેપ છે જે સંભવિત, પુષ્ટિ અને પૂર્ણ તબક્કાઓનો સમાવેશ કરે છે. એસેમાં , નમૂનાના સીરીયલ ડાયલ્યુશનને બ્રોથ મીડિયામાં ઇનોક્યુલેટ કરવામાં આવે છે. ગેસ પોઝિટિવ (લેક્ટોઝના આથો) ટ્યુબની સંખ્યા ગણવામાં આવે છે, જેમાંથી ખંડના અન્ય 2 તબક્કાઓ કરવામાં આવે છે, અને તે પછી સજીવની સંખ્યાના અંદાજ માટે આંકડાકીય કોષ્ટકની સલાહ લેવા માટે સકારાત્મક પરિણામોના સંયોજનોનો ઉપયોગ કરે છે. લાક્ષણિક રીતે , ફક્ત પ્રથમ 2 તબક્કાઓ કોલિફોર્મ અને ફેકલ કોલિફોર્મ વિશ્લેષણમાં કરવામાં આવે છે , જ્યારે બધા 3 તબક્કાઓ ઇ કોલી માટે કરવામાં આવે છે. 3-ટ્યુબ એમપીએન પરીક્ષણનો ઉપયોગ મોટાભાગના ખોરાકના પરીક્ષણ માટે થાય છે. 5-ટ્યુબ એમપીએનનો ઉપયોગ પાણી, શેલફિશ અને શેલફિશ લણણી(હાર્વેસ્ટ)ના પાણીના પરીક્ષણ માટે થાય છે.

5 ટ્યુબ એમપીએન પદ્ધતિ

પહેલું પગલું: કુલ કોલિફોર્મ્સ માટે પૂર્વગામી પરીક્ષણ

મીડિયા જરૂરી:

એ) ડબલ તાકાત મેકોન્કી બ્રોથ -1 ફ્લાસ્ક - 50 મિલી; ફ્લાસ્કમાં ઉંધી ડરહામની નળી મૂકો

બી) ડબલ તાકાત મેકોન્કી બ્રોથ - 5 ટ્યુબ્સ - 10 એમએલ; દરેક ટ્યુબમાં ઉંધી ડરહામની નળી મૂકો

સી) સિંગલ તાકાત મેકોન્કી બ્રોથ - 10 ટ્યુબ્સ -10 મિલી; દરેક ટ્યુબમાં ઉંધી ડરહામની નળી મૂકો

પદ્ધતિ:

- વિશ્લેષણ માટે પાણીના નમૂનાઓ સંગ્રહિત કરો.
- 50 મિલી ડબલ સ્ટ્રેન્થ મેકોન્કી બ્રોથ ધરાવતા ફ્લાસ્કમાં 50 મિલી પાણીના નમૂનાનું સ્થાનાંતરણ; ડબલ સ્ટ્રેન્થ મેકોન્કી બ્રોથ ધરાવતા 5 ટ્યુબ પર પાણીના નમૂનાના દરેક 10ML; સિંગલ સ્ટ્રેન્થ મેકોન્કી બ્રોથની 5 ટ્યુબમાં પ્રત્યેક 1 મિ.લી. જંતુરહિત પાતળા પ્રવાહીના 9 મિલી પાણી માટે 1 મિલી ઉમેરીને પાણીના નમૂનાનું સિરીયલ વિક્ષેપ બનાવો અને એકમાત્ર તાકાતના મેકોન્કી બ્રોથના આગલા પાંચ ટ્યુબમાં પ્રથમ મિશ્રણ (મૂળ નમૂનાના 0.1 મિલીની સમકક્ષ) માં 1 મિલી ઉમેરો.
- યોગ્ય લેબલ. 35 ± 2° સે તાપમાને ફ્લાસ્ક અને ટ્યુબ્સ ઉકાળો.

- વૃદ્ધિ અને ગેસના નિર્માણ માટે **24 ± 2** કલાક પછી નળીઓની તપાસ કરો. જો નળીઓ **24** કલાકે નકારાત્મક હોય, તો વધારાના **24** કલાક માટે નળીઓ ફરીથી ભેગા કરો અને ગેસ માટે ફરીથી પરીક્ષણ કરો. જો એસિડ (પીળો રંગ) અને ગેસ ઉત્પાદન (ડરહામની નળીમાં પરપોટા) જોવામાં આવે છે, તો પ્રતિક્રિયા હકારાત્મક તરીકે નોંધવામાં આવે છે.
- **50** એમ.એલ.,**10** એમ.એલ. અને **1** એમ.એલ. અને **0.1** એમ.એલ. ટ્યુબના દરેક સેટમાં સંખ્યા તરીકે પરિણામોની નોંધ લેશો.
- ધોરણ મુજબ **5**-ટ્યુબ એમપીએન કોષ્ટક સાથે પરિણામોની તુલના કરો અને બધી સકારાત્મક ટ્યુબ માટે પુષ્ટિ પરીક્ષણ કરો.

પગલું II: કોલિફોર્મ્સ માટે પુષ્ટિ પરીક્ષણ

મીડિયાને આવશ્યક છે: બ્રિલિયંટ ગ્રીન લેક્ટોઝ બાઇલ બ્રોથ (બીજીએલબી 2%) પરીક્ષણ ટ્યુબમાં દરેક 5 એમએલ; દરેક ટ્યુબમાં ઉંધી ડરહામની નળી મૂકો

- મેકોન્કી બ્રોથની સકારાત્મક નળીઓમાંથી બીજીએલબી બ્રોથની નળીમાં સ્થગિત કરો, જો પેલિકલ હાજર હોય તો ટાળો. (આ સ્થાનાંતરણો માટે જંતુરહિત લાકડાના એપ્લીકેટર લાકડીનો ઉપયોગ પણ થઈ શકે છે).
- 35 ડિગ્રી સેલ્સિયસ પર બી.જી.એલ.બી. ટ્યુબ્સને ઇન્કયુબેટ કરો અને 48 ± 3 કલાક પર ગેસ ઉત્પાદન માટે પરીક્ષણ કરો.
- 50 મિલી, 10 મિલી, 1 મિલી અને 0.1 મિલી ટ્યુબના દરેક સેટમાં હકારાત્મક સંખ્યા તરીકે પરિણામોની નોંધ લો.
- 5-ટ્યુબ એમપીએન કોષ્ટકમાંથી કોલિફોર્મ્સની સૌથી સંભવિત સંખ્યા(એમપીએન) ની ગણતરી કરો. 100એમએલ દીઠ કોલિફોર્મ્સ એમપીએન તરીકે પરિણામ આપો.

પગલું III: ફેકલ કોલિફોર્મ્સ માટે પુષ્ટિ પરીક્ષણ

જરૂરી મીડિયા: ઇસી બ્રોથ , પરીક્ષણ ટ્યુબમાં દરેક 5 એમએલ; દરેક ટ્યુબમાં ઉંધી ડરહામની નળી મૂકો.

- હકારાત્મક બીજીએલબી ટ્યુબથી સસ્પેન્શનની લૂપકુલ ઇસી બ્રોથ પર સ્થાનાંતરિત કરો. યોગ્ય લેબલ કરો.
- ઇસી ટ્યુબ્સ 24±2 કલાક 44.5° સે તાપમાંકિત કરો અને ગેસના ઉત્પાદન માટે પરીક્ષણ કરો.
- 50 મિલી, 10 મિલી, 1 મિલી અને 0.1 મિલી ટ્યુબના દરેક સેટમાં હકારાત્મક સંખ્યા તરીકે પરિણામોની નોંધ લો.

- ફેકલ કોલિફોર્મ એમપીએનની ગણતરી કરવા માટે આ પરીક્ષાનું પરિણામ વાપરો અને 100 એમએલ દીઠ ફેકલ કોલિફોર્મ્સ એમપીએન તરીકે પરિણામ વ્યક્ત કરો.

નોંધ: પાણી, શેલફિશ અને શેલફિશ લણણીના પાણી વિશ્લેષણ સિવાય, ખોરાકના પરીક્ષણ માટે ફેકલ કોલિફોર્મ વિશ્લેષણ **45.5** ° સે પર કરવામાં આવે છે, જે **44.5** ° સેનો ઉપયોગ કરે છે

પગલું IV: ઇ. કોલી માટે પૂર્ણ પરીક્ષણ

મીડિયા આવશ્યક:

એ) ઇઓસીન-મિથિલિન બ્લુ (ઇએમબી) અગાર

બી) ટ્રિપ્ટોન (ટ્રિપ્ટોફન) બ્રોથ

સી) એમઆર-વીપી બ્રોથ

ડી) કોસર્સ સાઇટ્રેટ બ્રોથ

e) સિમોન્સ સાઇટ્રેટ અગાર

f) પ્લેટ કાઉન્ટ અગાર (પીસીએ)

પદ્ધતિ:

- ઇએમબી અગારના 100 મિલી ઓગાળો અને 45-50° સે. સુધી ઠંડુ કરો, પેટ્રી ડીશમાં રેડી અને સેટ કરવા મુંકો, સેટ પ્લેટો 45 મિનિટ માટે 56° સે. તાપમાને સૂકવવામાં આવે છે અને ઓરડાના તાપમાને ઠંડી કરવામાં આવે છે.
- ઇએમબી અગાર પ્લેટ પર ઇસી બ્રોથની સકારાત્મક ટ્યુબથી ઉછેરને સ્ટ્રેક લૂપફૂલ કરી અને 35 ± 0.5° સે. તાપમાને 18-24 કલાક માટે ઇંક્યુબેટ કરવું.
- શંકાસ્પદ ઇ.કોલી કોલોનીઓ, એટલે કે, શ્યામ કેન્દ્રિત અને સપાટ, મેટાલિક ચમકવા માટે પ્લેટોની તપાસ કરો. દરેક ઇએમબી પ્લેટમાંથી પીસીએ સ્લેંટમાં 5 જેટલી શંકાસ્પદ કોલોનીઓ સ્થાનાંતરિત કરો; તેમને 18-24 કલાક માટે 35± 0.5° સે. પર ઇંક્યુબેટ કરો અને વધુ પરીક્ષણ માટે ઉપયોગ કરો.

પગલું- V: IMViC **પરીક્ષણો**

(એ) ઇન્ડોલનું ઉત્પાદન: શંકાસ્પદ ઇ.કોલીને ટ્રિપ્ટોન બ્રોથમાં ઇનોક્યુલેટ કરો અને 24±2 કલાક 35±0.5°સે. કોવાક્સના રીએજેન્ટના 0.2-0.3 મિલી ઉમેરીને ઇન્ડોલ માટે પરીક્ષણ કરો. ઉપલા સ્તરમાં અલગ લાલ રંગનો દેખાવએ સકારાત્મક પરીક્ષણ છે.

(બી) વોગસ-પ્રોસ્કૌર (વીપી) પરીક્ષણ: એમઆર-વીપી બ્રોથમાં શંકાસ્પદ ઇ. કોલીને ઇનોક્યુલેટ કરો 48±2 કલાક અને 35 ±0.5 ડિગ્રી સે. પર ઇંક્યુબેટ કરો. ઇંક્યુબેટ કરેલ ઉછેરના 1 મિલીને

13×100 મીમી નળીમાં સ્થાનાંતરિત કરો. 0.6 એમએલ α-નેફ્થોલ સોલ્યુશન અને 0.2 એમએલ 40% KOH ઉમેરો, અને શેક કરો. ક્રિએટાઇનના થોડા સ્ફટિકો ઉમેરો અને હલાવો 2 કલાક માટે ઉભી રાખો. જો ઇઓસિન ગુલાબી રંગ વિકસે તો પરીક્ષણ સકારાત્મક છે.

(સી) મિથાઇલ લાલ પરીક્ષણ: શંકાસ્પદ ઇ. કોલીને એમઆર-વીપી બ્રોથમાં ઇનોક્યુલેટ કરી 48±2 કલાક અને 35±0.5°સે. તાપમાનમાં ઇંક્યુબેટ કરો. દરેક ટ્યુબમાં મિથાઇલ રેડ સોલ્યુશનના 5 ટીપાં ઉમેરો. વિશિષ્ટ લાલ રંગ એ સકારાત્મક કસોટી છે. પીળો નકારાત્મક પ્રતિક્રિયા છે.

(ડી) સિમ્મન્સ સિટ્રેટ અગાર: ઉછેરનો થોડો ભાગ લઇને અગાર સ્લેન્ટ્સ પર સ્ટ્રિક કરો અને 48-96 કલાક સુધી 37° સે. પર ઇંન્ક્યુબેટ કરો. વૃદ્ધિ એ લીલાથી વાદળીના માધ્યમના રંગમાં ફેરફાર દ્વારા દર્શાવવામાં આવે છે, જે સકારાત્મક છે. ઇ કોલી સાઇટ્રેટનો ઉપયોગ કરતા નથી અને તેથી નકારાત્મક પ્રતિક્રિયા આપે છે.

અર્થઘટન: ++ - ના IMViC પરીક્ષણોને E. કોલી માનવામાં આવે છે.

5 ટ્યુબ એમપીએન કોષ્ટકથી ઇ કોલીના એમપીએનની ગણતરી કરો અને પરિણામ 100 મિલી દીઠ ઇ કોલી એમપીએન તરીકે દર્શાવો.

કોષ્ટક: પાણીના નમૂનાઓ માટે 5 ટ્યુબ એમ.પી.એન. કોષ્ટક

સકારાત્મક પ્રતિક્રિયા આપતી નળીઓની સંખ્યા			100 એમએલ પાણી દીઠ એમપીએન
50 મીલી 1	5 માંથી 10 મિલી	5 ના 1 મિલી	
0	0	0	<1
0	0	1	1
0	0	2	2
0	1	0	1
0	1	1	2
0	1	2	3
0	2	0	2
0	2	1	3
0	2	2	4
0	3	0	3
0	3	1	5
0	4	0	5
1	0	0	1
1	0	1	3
1	0	2	4
1	0	3	6
1	1	0	3
1	1	1	5

1	**1**	**2**	**7**
1	**1**	**3**	**9**
1	**2**	**0**	**5**
1	**2**	**1**	**7**
1	**2**	**2**	**10**
1	**2**	**3**	**12**
1	**3**	**0**	**8**
1	**3**	**1**	**11**
1	**3**	**2**	**14**
1	**3**	**3**	**18**
1	**3**	**4**	**21**
1	**4**	**0**	**13**
1	**4**	**1**	**17**
1	**4**	**2**	**22**
1	**4**	**3**	**28**
1	**4**	**4**	**35**
1	**4**	**5**	**43**
1	**5**	**0**	**24**
1	**5**	**1**	**35**
1	**5**	**2**	**54**
1	**5**	**3**	**92**
1	**5**	**4**	**161**
1	**5**	**5**	**>180**

કોષ્ટક: પાણીના નમૂનાઓ માટે 5 ટ્યુબ એમ.પી.એન. કોષ્ટક

સકારાત્મક પ્રતિક્રિયા આપતી નળીઓની સંખ્યા			એમપીએન પાણીની
5 ના 10 મી.લી.	**5 ના 1 મિલી**	**5 માંથી 0.1 મિલી**	**100100 મી**
0	**0**	**0**	**0**
0	**0**	**1**	**2**
0	**0**	**2**	**4**
0	**1**	**0**	**2**
0	**1**	**1**	**4**
0	**1**	**2**	**6**
0	**2**	**0**	**4**
0	**2**	**1**	**6**
0	**3**	**0**	**6**
1	**0**	**0**	**2**
1	**0**	**1**	**4**
1	**0**	**2**	**6**
1	**0**	**3**	**8**
1	**1**	**0**	**4**
1	**1**	**1**	**6**
1	**1**	**2**	**8**
1	**2**	**0**	**6**
1	**2**	**1**	**8**
1	**2**	**2**	**10**
1	**3**	**0**	**8**

1	**3**	**1**	**10**
1	**4**	**0**	**11**
2	**0**	**0**	**5**
2	**0**	**1**	**7**
2	**0**	**2**	**9**
2	**0**	**3**	**12**
2	**1**	**0**	**7**
2	**1**	**1**	**9**
2	**1**	**2**	**12**
2	**2**	**0**	**9**
2	**2**	**1**	**12**
2	**2**	**2**	**14**
2	**3**	**0**	**12**
2	**3**	**1**	**14**
2	**4**	**0**	**15**
3	**0**	**0**	**8**
3	**0**	**1**	**11**
3	**0**	**2**	**13**
3	**1**	**0**	**11**
3	**1**	**1**	**14**
3	**1**	**2**	**17**
3	**1**	**3**	**20**
3	**2**	**0**	**14**
3	**2**	**1**	**17**
3	**2**	**2**	**20**
3	**3**	**0**	**17**
3	**3**	**1**	**20**
3	**4**	**0**	**20**
3	**4**	**1**	**25**
3	**5**	**0**	**25**
4	**0**	**0**	**13**
4	**0**	**1**	**17**
4	**0**	**2**	**20**
4	**0**	**3**	**25**
4	**1**	**0**	**17**
4	**1**	**1**	**20**
4	**1**	**2**	**25**
4	**2**	**0**	**20**
4	**2**	**1**	**25**
4	**2**	**2**	**30**
4	**3**	**0**	**25**
4	**3**	**1**	**35**
4	**3**	**2**	**40**
4	**4**	**0**	**35**
4	**4**	**1**	**40**
4	**4**	**2**	**45**
4	**5**	**0**	**40**
4	**5**	**1**	**50**

4	**5**	**2**	**55**
5	**0**	**0**	**25**
5	**0**	**1**	**30**
5	**0**	**2**	**45**
5	**0**	**3**	**60**
5	**0**	**4**	**75**
5	**1**	**0**	**35**
5	**1**	**1**	**45**
5	**1**	**2**	**65**
5	**1**	**3**	**85**
5	**1**	**4**	**115**
5	**2**	**0**	**50**
5	**2**	**1**	**70**
5	**2**	**2**	**95**
5	**2**	**3**	**120**
5	**2**	**4**	**150**
5	**2**	**5**	**175**
5	**3**	**0**	**80**
5	**3**	**1**	**110**
5	**3**	**2**	**140**
5	**3**	**3**	**175**
5	**3**	**4**	**200**
5	**3**	**5**	**250**
5	**4**	**0**	**130**
5	**4**	**1**	**170**
5	**4**	**2**	**225**
5	**4**	**3**	**275**
5	**4**	**4**	**350**
5	**4**	**5**	**425**
5	**5**	**0**	**250**
5	**5**	**1**	**350**
5	**5**	**2**	**550**
5	**5**	**3**	**900**
5	**5**	**4**	**1600**
5	**5**	**5**	**>1800**

પાણીમાં સૂચક સજીવો નક્કી કરવા માટે એમ પી.એન.

ટેન ટ્યુબ એમપીએન કોલિફોર્મ પરીક્ષણ - પાણી માટે અનુમાનિત અને પુષ્ટિ પ્રક્રિયાઓ

પદ્ધતિ: યુએસએફડીએ બીએએમ: 2018

પગલું -1-અનુમાનિક કોલિફોર્મ્સ માટે પરીક્ષણ

- 2 એક્સ લોરીયલ ટ્રિપ્ટોઝ બ્રોથ/લેક્ટોઝ બ્રોથ (એલબી) (10 મીલી માધ્યમ) ની 10 એમએલ અનડેલ્યુટેડ નમૂના સાથે 10 ટ્યુબનો ઇનોક્યુલેટ કરો.
- 35° સે. તાપમાને સેવન(ઇન્ક્યુબેટ)કરો.

- વૃદ્ધિ અને ગેસના નિર્માણ માટે 24±2 કલાક નળીઓની તપાસ કરો, જ્યારે ટ્યુબ નરમાશથી ઉત્તેજિત થાય છે ત્યારે આથોની શીશી અથવા ઇમ્પ્રુવેન્સન્સમાં માધ્યમના વિસ્થાપન દ્વારા પુરાવા મળે છે.
- જો 24 કલાકે નકારાત્મક હોય, તો વધારાના 24 કલાક માટે નળીઓ ફરીથી ભેગા કરો અને ગેસ માટે ફરીથી પરીક્ષણ કરો.

પગલું -2-એમપીએન - કોલિફોર્મ્સ માટે પુષ્ટિ પરીક્ષણ

- દરેક હકારાત્મક એલએસટી ટ્યુબની નરમાશથી એજિટેટ કરો અને, 3.0- 3.5 મીમી જંતુરહિત લૂપનો ઉપયોગ કરીને, બી.જી.એલ.બી. (બ્રિલિયન્ટ ગ્રિન લેક્ટોઝ બાઇલ) બ્રોથની ટ્યુબમાં સસ્પેન્શનની એક અથવા વધુ લૂપ્સને સ્થાનાંતરિત કરો.
- જંતુરહિત લાકડાના એપ્લીકેટર લાકડીઓનો ઉપયોગ બ્રોથ ઉછેરમાં ઓછામાં ઓછા 2.5 સે.મી. કરીને દાખલ કરીને સ્થાનાંતરણ માટે પણ થઈ શકે છે.
- 48±2 કલાક માટે 35 ડિગ્રી સેલ્સિયસ પર બી.જી.એલ.બી. ટ્યુબ્સ સેવન(ઇન્ક્યુબેટ)કરો.ગેસ ઉત્પાદન અને રેકોર્ડ માટે પરીક્ષણ. 10 ટ્યુબ એમપીએન ટેબલનો ઉપયોગ કરીને એમપીએનની ગણતરી કરો.

પગલું -3 એમપીએન - ફેકલ કોલિફોર્મ્સ માટે પુષ્ટિ પરીક્ષણ

- ધારણાત્મક પરીક્ષણમાંથી દરેક સકારાત્મક એલએસટી અથવા એલબી ટ્યુબમાંથી, દરેક સસ્પેન્શનની એક લૂપફૂલને ઇસી બ્રોથની ટ્યુબમાં સ્થાનાંતરિત કરો (આ સ્થાનાંતરણ માટે એક જંતુરહિત લાકડાના એપ્લીકેટર લાકડીનો ઉપયોગ પણ થઈ શકે છે).
- ઇસી ટ્યુબ્સ 24 ± 2 કલાક 44.5° સે. તાપમાન પર સેવન(ઇન્ક્યુબેટ)કરો અને ગેસના ઉત્પાદન માટે પરીક્ષણ કરો.
- જો નકારાત્મક હોય, તો ફરીથી 48 ± 2 કલાક પર ફરીથી પરીક્ષણ કરો.
- કોષ્ટકમાંથી ફેકલ કોલિફોર્મ એમપીએનની ગણતરી કરવા માટે આ પરિણામ વાપરો.

પગલું - 4 એમપીએન - ઇ કોલી માટે પૂર્ણ પરીક્ષણ

- ઇ.કોલી માટે પૂર્ણ પરીક્ષણ કરવા માટે, દરેક ગેસિંગ ઇસી ટ્યુબને નરમાશથી એજીટેટ કરો, એલ-ઇએમબી (લેવિન ઇઓસીન મિથિલિન બ્લુ) અગાર પ્લેટ પર અલગતા માટે સ્ટ્રિક કરો.
- 35±0.5 ડિગ્રી સેલ્સિયસ તાપમાને 18 થી 24 કલાક માટે સેવન(ઇન્ક્યુબેટ) કરો.
- શંકાસ્પદ ઇ.કોલી કોલોની, એટલે કે, શ્યામ કેન્દ્રિત અને સપાટ, મેટાલિક ચમક્યા વિના અથવા વગરની પ્લેટોની તપાસ કરો.

- દરેક એલ-ઇએમબી પ્લેટમાંથી 5 જેટલી શંકાસ્પદ કોલોનીને પીસીએ (પ્લેટ કાઉન્ટ અગર) સ્લેંટમાં સ્થાનાંતરિત કરો, તેમને 18-24 કલાક સુધી 35±0.5°સે. તાપમાને લો અને વધુ પરીક્ષણ માટે ઉપયોગ કરો.
- એમપીએન કોષ્ટકમાંથી પુષ્ટિ થયેલ ઇ.કોલી ની ગણતરી કરવા માટે આ પરિણામ વાપરો.

કોષ્ટક: 0.1, 0.01 અને 0.001 ગ્રામ ઇનોક્યુલમ સાથે 10 ટ્યુબ્સ એમપીએન, (ગ્રામ દીઠ એમપીએન) અને 95% વિશ્વાસ અંતરાલો.

સકારાત્મક નળીઓ			એમપીએન/ગ્રામ	સકારાત્મક નળીઓ			એમપીએન/ગ્રામ
0.1	**0.01**	**0.001**		**0.1**	**0.01**	**0.001**	
0	0	0	< >	8	2	0	17
0	0	1	0.9	8	2	1	19
0	0	2	1.8	8	2	2	21
0	1	0	0.9	8	2	3	23
0	1	1	1.8	8	3	0	19
0	2	0	1.8	8	3	1	21
0	2	1	2.7	8	3	2	24
0	3	0	2.7	8	3	3	26
1	0	0	0.94	8	4	0	22
1	0	1	1.9	8	4	1	24
1	0	2	2.8	8	4	2	26
1	1	0	1.9	8	4	3	29
1	1	1	2.9	8	5	0	24
1	1	2	3.8	8	5	1	27
1	2	0	2.9	8	5	2	29
1	2	1	3.8	8	5	3	32
1	3	0	3.8	8	6	0	27
1	3	1	4.8	8	6	1	30
1	4	0	4.8	8	6	2	33
2	0	0	2	8	7	0	30
2	0	1	3	8	7	1	33
2	0	2	4	8	7	2	36
2	1	0	3	8	8	0	34
2	1	1	4	8	8	1	37
2	1	2	5	9	0	0	17
2	2	0	4	9	0	1	19
2	2	1	5	9	0	2	22
2	2	2	6.1	9	0	3	24
2	3	0	5.1	9	1	0	19
2	3	1	6.1	9	1	1	22
2	4	0	6.1	9	1	2	25
2	4	1	7.2	9	1	3	28
2	5	0	7.2	9	1	4	31
3	0	0	3.2	9	2	0	22
3	0	1	4.2	9	2	1	25
3	0	2	5.3	9	2	2	28
3	1	0	4.2	9	2	3	32
3	1	1	5.3	9	2	4	35

3	1	2	6.4	9	3	0	25
3	2	0	5.3	9	3	1	29
3	2	1	6.4	9	3	2	32
3	2	2	7.5	9	3	3	36
3	3	0	6.5	9	3	4	40
3	3	1	7.6	9	4	0	29
3	3	2	8.7	9	4	1	33
3	4	0	7.6	9	4	2	37
3	4	1	8.7	9	4	3	41
3	5	0	8.8	9	4	4	45
4	0	0	4.5	9	5	0	33
4	0	1	5.6	9	5	1	37
4	0	2	6.8	9	5	2	42
4	1	0	5.6	9	5	3	46
4	1	1	8.8	9	5	4	51
4	1	2	8	9	6	0	38
4	2	0	6.8	9	6	1	43
4	2	1	8	9	6	2	47
4	2	2	9.2	9	6	3	53
4	3	0	8.1	9	7	0	44
4	3	1	9.3	9	7	1	49
4	3	2	10	9	7	2	54
4	4	0	9.3	9	7	3	60
4	4	1	11	9	8	0	50
4	5	0	11	9	8	1	55
4	5	1	12	9	8	2	61
4	6	0	12	9	8	3	68
5	0	0	6	9	9	0	57
5	0	1	7.2	9	9	1	63
5	0	2	8.5	9	9	2	70
5	0	3	9.8	10	0	0	23
5	1	0	7.3	10	0	1	27
5	1	1	8.5	10	0	2	31
5	1	2	9.8	10	0	3	37
5	1	3	11	10	1	0	27
5	2	0	8.6	10	1	1	32
5	2	1	9.9	10	1	2	38
5	2	2	11	10	1	3	44
5	3	0	10	10	1	4	52
5	3	1	11	10	2	0	33
5	3	2	13	10	2	1	39
5	4	0	11	10	2	2	46
5	4	1	13	10	2	3	54
5	4	2	14	10	2	4	63
5	5	0	13	10	3	0	40
5	5	1	14	10	3	1	47
5	6	0	14	10	3	2	56
6	0	0	7.8	10	3	3	66
6	0	1	9.2	10	3	4	77
6	0	2	11	10	3	5	89
6	0	3	12	10	4	0	49
6	1	0	9.2	10	4	1	59
6	1	1	11	10	4	2	70

6	1	2	12	10	4	3	82
6	1	3	14	10	4	4	94
6	2	0	11	10	4	5	110
6	2	1	12	10	5	0	62
6	2	2	14	10	5	1	74
6	2	3	15	10	5	2	87
6	3	0	12	10	5	3	100
6	3	1	14	10	5	4	110
6	3	2	15	10	5	5	130
6	4	0	14	10	5	6	140
6	4	1	15	10	6	0	79
6	4	2	17	10	6	1	94
6	5	0	16	10	6	2	110
6	5	1	17	10	6	3	120
6	5	2	19	10	6	4	140
6	6	0	17	10	6	5	160
6	6	1	19	10	6	6	180
6	7	0	19	10	7	0	100
7	0	0	10	10	7	1	120
7	0	1	12	10	7	2	140
7	0	2	13	10	7	3	150
7	0	3	15	10	7	4	170
7	1	0	12	10	7	5	190
7	1	1	13	10	7	6	220
7	1	2	15	10	7	7	240
7	1	3	17	10	8	0	130
7	2	0	13	10	8	1	150
7	2	1	15	10	8	2	170
7	2	2	17	10	8	3	200
7	2	3	19	10	8	4	220
7	3	0	15	10	8	5	250
7	3	1	17	10	8	6	280
7	3	2	19	10	8	7	310
7	3	3	21	10	8	8	350
7	4	0	17	10	9	0	170
7	4	1	19	10	9	1	200
7	4	2	21	10	9	2	230
7	4	3	23	10	9	3	260
7	5	0	19	10	9	4	300
7	5	1	21	10	9	5	350
7	5	2	23	10	9	6	400
7	6	0	21	10	9	7	460
7	6	1	23	10	9	8	550
7	6	2	25	10	9	9	610
7	7	0	23	10	10	0	240
7	7	1	26	10	10	1	290
8	0	0	13	10	10	2	350
8	0	1	15	10	10	3	430
8	0	2	17	10	10	4	540
8	0	3	19	10	10	5	700
8	1	0	15	10	10	6	920
8	1	1	17	10	10	7	1200
8	1	2	19	10	10	8	1600

8	1	3	21	10	10	9	2300
				10	10	10	>2300

સંદર્ભ

1. ફેંગ, પી., વેગન્ટ, એસ.ડી., ગ્રાન્ટ, એમ. એ. અને બુરખાર્ડ, ડબલ્યુ. **(2002).** બેક્ટેરિઓલોજિકલ વિશ્લેષણાત્મક મેન્યુઅલ, પ્રકરણ **4,** યુએસએફડીએ.

2. સુરેન્દ્રન, પી.કે., થામપુરન, એન., નંબિયાર, વી.એન., લલિતા, કે.વી. અને જોસેફ, ટી.સી., **2013,** સીફૂડની સુક્ષ્મજીવાણિક પરીક્ષા માટે પ્રયોગશાળા તકનીકો. ચોથી આવૃત્તિ , સેન્ટ્રલ ઇન્સ્ટિટ્યૂટ ઓફ ફિશરીઝ ટેક્નોલ .જી, કોચીન-**682029,** ભારત

3. ફેંગ, પી., વેગન્ટ, એસ. ડી., ગ્રાન્ટ, એમ. એ., બુરખાર્ડ, ડબલ્યુ., શેલફિશ, એમ., અને પાણી, બી. (2018). બીએએમ: એસ્ચેરીચીયા કોલી અને કોલિફોર્મ બેક્ટેરિયા, પ્રકરણ 4) ની ગણતરી. બેક્ટેરિઓલોજિકલ વિશ્લેષણાત્મક માર્ગદર્શિકા. 2018 (ઓગસ્ટ 2020 માં પ્રવેશ).

****

સીફૂડમાંથી સ્ટેફાયલોકોકસ ઓરિયસની અલગતા અને ઓળખ

રમ્યા.એસ

પરિચય

- ગ્રામ-સકારાત્મક રાઉન્ડ આકારનું (કોકલ) બેક્ટેરિયમ
- "દ્રાક્ષના ટોળું" તરીકે દેખાય છે
- સ્ટેફાયલોકોકસ જીનસ નામ ગ્રીક શબ્દ "સ્ટેપાયલ" (દ્રાક્ષ-ક્લસ્ટર બેરી/દ્રાક્ષનો ટોળું) પરથી ઉતરી આવ્યું છે અને પ્રજાતિઓનું નામ "ઓરિયસ" (સુવર્ણ) લેટિન છે.
- ફેકલટેટિવ એનોરોબ, જે ઓક્સિજનની જરૂરિયાત વિના વિકસી શકે છે
- માનવ શરીરના પ્રાકૃતિક વનસ્પતિના સભ્ય.
- વારંવાર નાક, શ્વસન માર્ગ અને ત્વચા પર જોવા મળે છે.
- ગરમીની સારવાર દ્વારા અને લગભગ તમામ સેનિટાઇઝિંગ એજન્ટો દ્વારા વિનાશ માટે તે ખૂબ જ સંવેદનશીલ છે.
- તેથી, પ્રક્રિયા કરેલ ખોરાકમાં અથવા ફૂડ પ્રોસેસિંગ ઉપકરણો પર આ બેક્ટેરિયમ અથવા તેના એન્ટેરોટોક્સિનની હાજરી સામાન્ય રીતે નબળી સ્વચ્છતા સૂચવે છે.
- તે એક મહત્વપૂર્ણ માનવ રોગકારક રોગ છે જે ત્વચા અને શ્વસન ચેપનું કારણ બને છે.
- તે તેના એન્ટેરોટોક્સિન અને અન્ય સુપરેન્ટિજેન્સના ઉત્પાદન દ્વારા ખોરાકમાં ગંભીર ઝેર પેદા કરી શકે છે.
- મેથિસિલિન-રેઝિસ્ટન્ટ એસ. ઓરિયસ (એમઆરએસએ) જેવા એસ. ઓરિયસના એન્ટીબાયોટીક-પ્રતિરોધક જાતોનો ઉદભવ ક્લિનિકલ દવાઓમાં વૈશ્વિક સમસ્યા છે.

ડાયરેક્ટ પ્લેટ ગણતરી પદ્ધતિ (સ્રોત: બેક્ટેરિઓલોજિકલ વિશ્લેષણાત્મક મેન્યુઅલ, પ્રકરણ 12, 2016, યુએસએફડીએ)

- આ પદ્ધતિ ખોરાકના વિશ્લેષણ માટે યોગ્ય છે જેમાં 100 થી વધુ એસ.ઓરિયસ કોષો/ગ્રામની અપેક્ષા છે.

મીડિયા અને રીએજન્ટ્સ

1. બેઅર્ડ-પાર્કર (બીપી) માધ્યમ
2. ટ્રાયપ્ટીકેઝ (ટ્રિપ્ટીક) સોયા અગર (TSA)
3. બ્રેન હાર્ટ ઇન્ફ્યુઝન (BHI) બ્રોથ
4. ઇડીટીએ સાથે કોગ્યુલેઝ પ્લાઝ્મા (સસલું)
5. ટોલુઇડિન બ્લુ-ડીએનએ અગાર
6. લિસોસ્ટેફિન

7. ટ્રિપ્ટોન આથો અર્ક અગર

8. પેરાફિન તેલ, જંતુરહિત

9. 0.02 એમ ફોસ્ફેટ-સલાઈન બફર જેમાં 1% એનએસીએલ છે

10. કેટલેસ પરીક્ષણ

પ્રી-સેટ બેઅર્ડ-પાર્કર (બીપી) પ્લેટોની તૈયારી

મૂળભૂત માધ્યમ

ટ્રિપ્ટોન	10 ગ્રામ
બીફ અર્ક	5 ગ્રામ
ખમીરનો અર્ક	1 ગ્રામ
સોડિયમ પાયુવેટ	10 ગ્રામ
ગ્લાયસીન	12 ગ્રામ
લિથિયમ ક્લોરાઇડ.6એચ$_2$ઓ	5 ગ્રામ
અગાર	20 ગ્રામ

- 121° સે. તાપમાને 15 મિનિટ માટે માધ્યમ ઓટોક્લેવ કરો.
- અંતિમ પીએચ, 7.0 ± 0.2.
- જો તાત્કાલિક ઉપયોગ માટે બનાવાયેલ હોય , તો સંવર્ધન ઉમેરતા પહેલા 48-50° સે. તાપમાને ઓગાળવામાં માધ્યમ જાળવો.
- જો નહીં,તો 1 મહિના સુધી 4±1 °સે તાપમાને નક્કર માધ્યમ સ્ટોર કરો. વોટરબાથ સંગ્રહિત બીપી માધ્યમનું એક 100 મીલી ફ્લાસ્ક ઓગળે.
- આશરે 50°સે. પર ઠંડા કરો.

વૃદ્ધિ અને પૂર્ણ માધ્યમ

- જંતુરહિત રીતે 95 મિલી ઓગાળવામાં આવેલા આધારમાં 5 મિલી પૂર્વ-હૂંફાળું (45-50° સે.) બેક્ટો ઇવાય (ઇંડા જરદી)ટેલુરાઇટ ઇંનરીચમેંટ કહેવાની સંવર્ધન ઉમેરો.

* વૈકલ્પિક રીતે, જંતુરહિત 1% પોટેશિયમ ટેલ્યુરાઇટ સોલ્યુશનના 1 મિલી ઉમેરો અને ત્યારબાદ 5 મિલી 50% ઇંડા જરદી પ્રવાહી મિશ્રણ.

- સારી રીતે ભળી દો (પરપોટા ટાળવું) અને જંતુરહિત પેટ્રી ડીશમાં રેડવું. માધ્યમ અપારદર્શક હોવું આવશ્યક છે.

- 56°સે. પર 45 મિનિટ સુધી સેટ કરી અને સૂકવવા દો.
- ઓરડાના તાપમાને ઠંડુ કરો.
- 5 દિવસ સુધી 20-25° સે. તાપમાને તૈયાર પ્લેટો સ્ટોર કરો.

બીપી મિડિયા માટે જંતુરહિત ઇંડા જરદી (50%) ની તૈયારી

- મરઘીનાં 5 ઇંડા લો અને તેને ગંદકીથી મુક્ત કરો.
- લૂછી અને સૂકાયા પછી , ઇંડાને આલ્કોહોલ (રેક્ટિફાઇડ સ્પિરિટ)માં ડૂબાડીને 1 લિટરનાં બીકરમાં 2 કલાક સુધી રાખો.
- આલ્કોહોલને નિતારો અને એક પછી એક ઇંડા કાઢો.
- જંતુરહિત માથાની ચામડીનો ઉપયોગ કરીને ઇંડાના એક છેડે એક નાનકડું છેદ કરો અને કાળજીપૂર્વક બધામાંથી ઇંડાના સફેદ ભાગને અલગ કાઢો.
- શેલને થોડી વધુ કાળજીપૂર્વક તોડો અને ઇંડા જરદી (પીળોભાગ) જંતુરહિત શંકુ ફલાસ્કમાં સ્થાનાંતરિત કરો.
- દરેક ઇંડા લગભગ 15 મિલી ઇંડા જરદી આપશે.
- જંતુરહિત સામાન્ય ખારું પાણી ઉમેરો , સારી રીતે મિક્સ કરો અને ઉભા રહેવાની મંજૂરી આપો.
- તેમાંથી 5 મિલી પીપેટની મદદથી જંતુરહિત પરીક્ષણ ટ્યુબમાં નાખવું , જંતુરહિત કપાસ સાથે પ્લગ કરો અને રેફ્રિજરેટરમાં રાખો.

ડાઇલુયંટની તૈયારી (બટરફિલ્ડની ફોસ્ફેટ-બફરર્ડ ડાયલ્યુશન વોટર)

- પોટેશિયમ ડાયહાઇડ્રોજન ફોસ્ફેટ (KH_2PO_4): 34 ગ્રામ
- નિસ્યંદિત પાણી: 500 મિલી
- 1 એન ના એનએઓએચ સાથે પીએચને 7.2 માં સમાયોજિત કરો.
- નિસ્યંદિત પાણી સાથે 1 લિ. પર વોલ્યુમ લાવો.
- 121° સે. પર 15 મિનિટ માટે વંધ્યીકૃત કરો.
- રેફ્રિજરેટરમાં સ્ટોર કરો.
- ઉપરના સ્ટોક સોલ્યુશનના 1.25 મિલી લો અને નિસ્યંદિત પાણી સાથે વોલ્યુમ 1 લિટર પર લાવો.
- બોટલમાંથી 90 અથવા ± 1 મિલી સુધી પહોંચાડો.
- 121° સે. પર 15 મિનિટ વંધ્યીકૃત કરો.

એસ. ઓરિયસની અલગતા અને ગણતરી

- 50 ગ્રામ માછલીના નમૂના/વિશ્લેષણાત્મક એકમ લો.
- જંતુરહિત બટરફિલ્ડની ફોસ્ફેટ-બફર કરેલ ડાઇલુટેટ પાણીમાં 450 મિલી ઉમેરો.
- બ્લેન્ડર જાર/સ્ટોમેચરમાં 2 મિનિટ માટે મિશ્રણ કરો આનું પરિણામ 10^{-1} ની ડાઇલુશન થાય છે.

* જીવાણુનાશક ડાઇલુશનના 90 મિલીલીટર વત્તા અગાઉના ડાઇલુશનના 10 મિલી સાથે તમામ દશાંશ ડાઇલુશન તૈયાર કરો

- ઉપરથી 10 મિલી + જંતુરહિત ડાઇલુયંટ 90 મિલી (10^{-2}).
- ઉપરથી 10 મિલી + જંતુરહિત ડાઇલુયંટ 90 મિલી (10^{-3}).
- દરેક ડાઇલુયંટમાંથી, 0.3, 0.3 અને 0.4 મિલી નમૂના સસ્પેન્શનને 3 બી.પી. પ્લેટોમાં સ્થાનાંતરિત કરો (ઇનોક્યુલમની 1 મિલી સમાનરૂપે 3 બીપી પ્લેટોમાં વિતરિત કરો).

*જંતુરહિત બેન્ટ ગ્લાસ સ્ટ્રેકીંગ લાકડીનો ઉપયોગ કરીને ,અગાર પ્લેટની સપાટી પર ઇનોક્યુલમને ફેલાવો.

* જ્યારે પ્લેટ ઇનોકુલમ અગાર (યોગ્ય રીતે સૂકા પ્લેટો પર લગભગ 10 મિનિટ) શોષી ન લે ત્યાં સુધી સીધી સ્થિતિમાં જાળવી રાખો.

* જો ઇનોક્યુલમ સહેલાઇથી શોષાય નહીં , તો લગભગ 1 કલાક માટે પ્લેટો સીધી ઇન્ક્યુબેટરમાં મૂકો.

- પ્લેટોને ઉંધી કરો અને 45-48 કલાક 35-37°સે. પરપર ઇન્ક્યુબેટ કરો.
- 20-200 કોલોની ધરાવતી પ્લેટો પસંદ કરો , સિવાય કે ફક્ત નીચલા પાતળા (> 200 કોલોની) માં પ્લેટો એસ.ઓરિયસની લાક્ષણિક દેખાવવાળી કોલોની ધરાવતા હોય.
- અસ્પષ્ટ ઝોનથી ઘેરાયેલા વ્હાઇટ માર્જિનવાળી કાળી કોલોનીની ગણતરી કરો.

*એસ.ઓરિયસની કોલોનીઓ ગોળ , સરળ, બહિર્મુખ, ભેજવાળી, 2-3 મીલીમીટર વ્યાસવાળું પ્લેટો પર, ગ્રેથી જેટ-બ્લેક, વારંવાર હળવા રંગના (ઓફ-વ્હાઇટ) માર્જિન સાથે, અસ્પષ્ટ ઝોનથી ઘેરાયેલી હોય છે અને વારંવાર બાહ્ય સ્પષ્ટ ઝોન ; જ્યારે સોયને ઇનોક્યુલેટિંગ સાથે સ્પર્શ કરવામાં આવે ત્યારે કોલોનીમાં ચીકણું સુસંગતતા હોય છે.

એસ.ઓરિયસ/ગ્રામ ની સંખ્યા = હકારાત્મક વસાહતોની સંખ્યા x ડાયલ્યુશન પરિબળ

* સકારાત્મક કોગ્યુલેઝ પરીક્ષણ આપતી કોલોની દ્વારા રજૂ કરાયેલ ત્રિગુણિત પ્લેટો પર કોલોનીની સંખ્યા ઉમેરો અને નમૂનાના ડાયલ્યુશન પરિબળ દ્વારા ગુણાકાર કરો. આ નંબરની જાણ એસ.ઓરિયસ/ ગ્રામ પરીક્ષણ કરેલ ખોરાકની સંખ્યા તરીકે કરો.

કોએગ્યુલેઝ પરીક્ષણ

- આ પરીક્ષણનો ઉપયોગ એસ.ઓરિયસને ઓળખવા માટે થાય છે , જે એન્ઝાઇમ કોગ્યુલેઝ ઉત્પન્ન કરે છે.
- શંકાસ્પદ એસ. ઓરિયસ કોલોનીમાં 0.2-0.3 મિલી બીએચઆઈ (બ્રેન હાર્ટ ઇંફુઝન) નાં બ્રોથ નાખો અને તેને સારી રીતે સંપૂર્ણપણે પ્રવાહી મિશ્રણ કરવું.
- યોગ્ય જાળવણી મિડિયાના અગાર સ્લેંટને ઇનોક્યુલેટ કરો , દા.ત., ટી.એસ.એ (ટ્રિપ્ટીકેસ સોયા અગાર), બી.એચ.આઈ સસ્પેન્શનની લૂપ્સ સાથે.
- 35-37 ડિગ્રી તાપમાન પર 18-24 કલાક માટે બીએચઆઈ ઉછેર સસ્પેન્શન અને અગાર સ્લેન્ટ્સ ઇંક્યુબેટ કરો.
- બીએચઆઈ ઉછેરમાં ઇડીટીએ (કોગ્યુલેઝ પ્લાઝ્મા (સસલું)) સાથે 0.5 મિલી પુનર્ગઠિત કોગ્યુલેઝ પ્લાઝ્મા ઉમેરો અને સારી રીતે ભળી દો.
- 35-37 ડિગ્રી સેલ્સિયસ તાપમાને ઇંક્યુબેટ કરો અને દર 6 કલાકથી વધુ સમય માટે તપાસો ગંઠન રચના / કોગ્યુલેશન / જેલની રચના માટે.
- માત્ર ટકી અને સંપૂર્ણ ગંઠાઇ જઇ જ્યારે ટ્યુબ નમેલી હોય અથવા ઉંધી હોય ત્યારે સ્થાને રહે છે, તે એસ.ઓરિયસ માટે સકારાત્મક માનવામાં આવે છે.

કોગ્યુલેઝ પરીક્ષણનો સિદ્ધાંત

- કોગ્યુલેઝ ફાઇબ્રીનોજનને ફાઈબિરિનમાં ફેરવીને પ્લાઝ્માને ગંઠવાનું કારણ બને છે.
- એસ.ઓરિયસના મોટાભાગની જાતો દ્વારા બે પ્રકારના કોગ્યુલેઝ ઉત્પન્ન થાય છે
- **ફ્રી કોગ્યુલેઝ** , જે પ્લાઝ્મામાં હાજર કોગ્યુલેઝ-રિએક્ટિંગ પરિબળને સક્રિય કરીને ફાઇબર્રોજનને ફાઇબિરિનમાં ફેરવે છે. પરીક્ષણ ટ્યુબમાં ગંઠાઇને ફ્રીકોગ્યુલેઝ શોધી શકાય છે.
- **બાઉન્ડ કોગ્યુલેઝ** (ક્લમ્પિંગ ફેક્ટર), જે કોગ્યુલેઝ-રિએક્ટિંગ પરિબળની જરૂરિયાત વિના ફાઇબરિનોજનને સીધા ફાઈબિરિનમાં ફેરવે છે. ઝડપી સ્લાઇડ પરીક્ષણમાં બેક્ટેરિયલ કોશિકાઓના ક્લમ્પિંગ દ્વારા તે શોધી શકાય છે.

આનુષંગિક પરીક્ષણો (વૈકલ્પિક)

1. કેટેલેસ પરીક્ષણ

- બેક્ટેરિયાને અલગ પાડવા માટે વપરાય છે , જે સ્ટ્રેપ્ટોકોકી જેવા બિન- કેટેલેસ પેદા કરતા બેક્ટેરિયાથી સ્ટેફાયલોકોકી જેવા એન્ઝાઇમ કેટેલેસ ઉત્પન્ન કરે છે.

- ગ્લાસ સ્લાઇડ અથવા સ્પોટ પ્લેટ પર કેટેલેસ પરીક્ષણ માટે ટિએસએ સ્લેંટથી વૃદ્ધિનો ઉપયોગ કરો અને ગેસ પરપોટાના ઉત્પાદનને અવલોકન કરવા માટે યોગ્ય રીતે પ્રકાશિત કરો.

સિદ્ધાંત

ઓક્સિજન અને પાણીમાં હાઇડ્રોજન પેરોક્સાઇડના ભંગાણમાં કેટેલેસ ઉત્પ્રેરક તરીકે કાર્ય કરે છે. સજીવને હાઇડ્રોજન પેરોક્સાઇડના સંપર્કમાં લાવીને કેટેલેસના ઉત્પાદન માટે પરીક્ષણ કરવામાં આવે છે. જો જીવ એક ઉત્પ્રેરક ઉત્પાદક છે , તો ઓક્સિજનના પરપોટા મુક્ત થાય છે. ઉછેર 24 કલાકથી વધુ જૂનુ હોવી જોઈએ નહીં.

1. ગ્લુકોઝનો એનારોબિક ઉપયોગ
2. મેનિટોલનો એનારોબિક ઉપયોગ
3. લિસોસ્ટેફિન સંવેદનશીલતા
4. થર્મોસ્ટેબલ ન્યુક્લીઝ ઉત્પાદન

એસ.ઓરિયસની લાક્ષણિક લાક્ષણિકતાઓ

લાક્ષણિકતા	***એસ.ઓરિયસ***
કોગ્યુલેઝ ઉત્પાદન	+
કેટેલેસ પ્રવૃત્તિ	+
ગ્લુકોઝનો એનોરોબિક ઉપયોગ	+
મન્નીટોલનો એનોરોબિક ઉપયોગ	+
લિસોસ્ટેફિન સંવેદનશીલતા	+
થર્મોસ્ટેબલ ન્યુક્લીઝ ઉત્પાદન	+

* +, મોટાભાગના (90% અથવા વધુ) તાણ સકારાત્મક છે

કોએગ્યુલેઝ-પોઝિટિવ સ્ટેફાયલોકોકી-સ્ટેફાયલોકોકસ ઓરિયસ અને અન્ય પ્રજાતિઓ (સ્રોત: આઇએસઓ 6888-1: 1999 / એએમડી. 1: 2003)

ખોરાક અને પ્રાણીઓને ખોરાક આપવાની સામગ્રીની માઇક્રોબાયોલોજી - કોગ્યુલેઝ-પોઝિટિવ સ્ટેફાયલોકોકી (સ્ટેફાયલોકોકસ ઓરિયસ અને અન્ય પ્રજાતિઓ) ની ગણતરી માટેની આડી પદ્ધતિ - ભાગ 1: બેર્ડ-પાર્કર અગાર મિડીયાની મદદથી તકનીક.

નમૂનાની તૈયારી:

બ્લેન્ડર બરણીમાં વિશ્લેષણાત્મક એકમના 50 ગ્રામ સ્થાનાંતરિત કરો, બફર્ડ ડાઇલુશન પાણી ઉમેરો અને 2 મિનિટ માટે મિશ્રણ કરો.

- તમામ દશાંશ ડાઇલુશન તૈયાર કરો.
- જો શક્ય હોય તો , ડાઇલુશન પસંદ કરવું જોઈએ કે જે પ્લેટ દીઠ 10 થી 300 વચ્ચે કોલોનીની વસાહતી ગણતરી આપે.

ઇનોક્યુલેશન

- યોગ્ય ડાઇલુશન પદાર્થના દશાંશિક ડાઇલુયંટ માંથી , દરેક બેડ-પાર્કર અગાર પ્લેટોની સપાટી પર દરેક યોગ્ય ડાઇલુશનમાંથી 0.1 મિલી એલિકોટ્સ ફેલાય છે.
- જો કોએગ્યુલેઝ-પોઝિટિવ સ્ટેફાયલોકોકીની ઓછી સંખ્યાની ગણતરી કરવી જરૂરી છે, તો પરીક્ષણ નમૂનાના 1 મિલી, જો પ્રવાહી, અથવા પ્રારંભિક સસ્પેન્શન, મોટા (140 મીમી) અગાર પ્લેટની સપાટી અથવા ત્રણ 90 મીમીની સપાટી પર ફેલાય છે. અગર પ્લેટો ડુપ્લિકેટમાં રાખો.
- પ્લેટોને લગભગ 15 મિનિટ માટે ઢાંકણ સાથે પ્રયોગશાળાના તાપમાને સૂકવવાની મંજૂરી છે.

સેવન(ઇંક્યુબેશન)

- 24(± 2 કલાક) માટે પ્લેટો ઉંધી 35° સે અથવા 37° સે. પર રાખવામાં આવે છે.
- આ સમય પછી , પ્લેટોની બોટમ્સ કોઈપણ લાક્ષણિક કોલોનીની સ્થિતિ દર્શાવવા માટે ચિહ્નિત થયેલ છે.
- બીજી વધુ 24(±2 કલાક) માટે પ્લેટો ફરીથી 35°સે. અથવા 37°સે. પર રાખવામાં આવે છે અને કોઈપણ નવી કોલોનીની સ્થિતિ ચિહ્નિત થયેલ છે.
- ટીપીકલ કોલોની પણ આ બિંદુએ ચિહ્નિત થયેલ હોવી જોઈએ.

પ્લેટોની પસંદગી અને અર્થઘટન

- લાક્ષણિક કોલોની કાળી અથવા ભૂખરા , ચળકતી અને બહિર્મુખ હોય છે અને તે સ્પષ્ટ ઝોનથી ઘેરાયેલી હોય છે જે આંશિક અપારદર્શક હોઈ શકે છે.
- ઓછામાં ઓછા 24 કલાક માટે સેવન(ઇંક્યુબેશન) પછી, કોલોની સાથે સંપર્કમાં તરત જ એક સ્પષ્ટ રિંગ આ સ્પષ્ટ ઝોનમાં દેખાઈ શકે છે.
- કોલોનીઓ 24 કલાક પછી 1-1.5 મીમી અને 48 કલાકના સેવન પછી 1.5-2.5 મીમી વ્યાસની હોય છે.

- એટીપિકલ કોલોની અને ટીપિકલ કોલોની કદ સમાન હોય છે , પરંતુ એક સાંકડી સફેદ ધાર સાથે અથવા વગર ચળકતી કાળી કોલોની હોઈ શકે છે , સ્પષ્ટ ઝોન ગેરહાજર અથવા ભાગ્યે જ દેખાય છે અને અપારદર્શક રિંગ ગેરહાજર અથવા ભાગ્યે જ દૃશ્યમાન હોય છે, અથવા સ્પષ્ટ ઝોન વિના ભૂખરી કોલોની.
- કોલોની ની ગણતરી ફક્ત બે ક્રમિક ડાઇલ્યુશન સ્થળોએ 150 લાક્ષણિક અને/અથવા એટીપીકલ કોલોનીવાળી મહત્તમ 300 કોલોની ધરાવતી પ્લેટો પર હોવી જોઈએ.
- એક પ્લેટમાં ઓછામાં ઓછી 15 કોલોની હોવી જોઈએ.
- પુષ્ટિ માટે પાંચ વિશિષ્ટ કોલોની પસંદ કરો જો ત્યાં ફક્ત લાક્ષણિક વસાહતો છે , ફક્ત એટીપીકલ કોલોની હોય તો પાંચ કાલ્પનિક વસાહતો , અથવા દરેક પ્લેટમાંથી બંને પ્રકારનાં હાજર હોય તો પાંચમાંથી પાંચ.

પુષ્ટિ (કોએગ્યુલેઝ પરીક્ષણ)

- જંતુરહિત વાયર લૂપનો ઉપયોગ કરીને , દરેક પસંદ કરેલી કોલોનીને સપાટી પરથી કાઢી નાખો અને બ્રેન હાર્ટ ઇંફ્યુજનની અલગ ટ્યુબમાં ઇનોક્યુલેટ કરો.
- 24 કલાક (± 2 કલાક) માટે 35 ° સે અથવા 37° સે તાપમાને આને સેવન (ઇંક્યુબેટ) કરો.
- ઇંક્યુબેશન પછી, દરેક ઉછેરના 0.1 મિલીલીટર જંતુરહિત હેમોલિસિસ ટ્યુબમાં 0.3 મીલી રેબિટ પ્લાઝ્મામાં ઉમેરો અને 35°સે. અથવા 37°સે. પર સેવન(ઇંક્યુબેટ) કરો.
- ટ્યુબને ટિલ્ટ કરીને 4-6 કલાક ઇંક્યુબેશન પછી ગંઠાઈ જવા માટેના પ્લાઝ્માની તપાસ કરો.
- જો કોઈ સકારાત્મક પ્રતિક્રિયા નથી, તો 24 કલાક સેવન(ઇંક્યુબેટ) પછી ટ્યુબને ફરીથી તપાસ કરો.
- રેબિટ પ્લાઝ્માના સપ્લાયર્સ તેમની પોતાની સૂચનાઓ પ્રદાન કરી શકે છે જેનું પાલન કરવું જોઈએ.
- જો ગંઠાવાનું વોલ્યુમ પ્રવાહીના મૂળ વોલ્યુમના અડધા કરતા વધુ ધરાવે છે , તો પરીક્ષણ સકારાત્મક છે.
- રેબિટ પ્લાઝ્માની ભલામણ કરેલ માત્રામાં જંતુરહિત બ્રેન હાર્ટ ઇંફ્યુજન ઉમેરીને નકારાત્મક નિયંત્રણ ગોઠવવું જોઈએ.

સંદર્ભ

1. રેજિનાલ્ડ ડબલ્યુ. બેનેટ અને ગેલ એ. લેન્સેટ. 2016. પ્રકરણ 12. સ્ટેફાયલોકોકસ ઓરિયસ. બેક્ટેરિઓલોજિકલ એનાલિટીકલ મેન્યુઅલ (બીએએમ). યુએસએફડીએ (ફૂડ એન્ડ ડ્રગ એડમિનિસ્ટ્રેશન).

2. ખોરાક અને પ્રાણીઓને ખોરાક આપવાની સામગ્રીની માઇક્રોબાયોલોજી - કોગ્યુલેઝ-પોઝિટિવ સ્ટેફાયલોકોકી (સ્ટેફાયલોકોકસ ઓરિયસ અને અન્ય પ્રજાતિઓ) ની ગણતરી માટેની આડી પદ્ધતિ - ભાગ 1: બેઅર્ડ-પાર્કર અગર માધ્યમની મદદથી તકનીક. આઇએસઓ 6888-1: 1999 / એએમડી. 1: 2003.

3. એઓએસી ઇન્ટરનેશનલ. 1995. વિશ્લેષણની સત્તાવાર પદ્ધતિઓ, 16 મી આવૃત્તિ.

****

સીફૂડમાંથી સાલ્મોનેલ્લાની અલગતા અને ઓળખ

રમ્યા એસ.

પરિચય

- ***સાલમોનેલ્લા*** નું નામ અમેરિકન પશુરોગ સર્જન ડી.ઇ. સાલ્મોન ઉપર થી આપવામાં આવ્યું છે
- ***સાલમોનેલ્લા*** એ એન્ટરોબેકટેરીએસી કુટુંબ સાથે જોડાયેલી લાકડી આકારની બેક્ટેરિયમ છે.
- ગ્રામ-નેગેટિવ સજીવ.
- ફેકલટેટીવ એનારોબિક બેક્ટેરિયા.
- થોડા અપવાદો સાથે, પેરીટ્રાઇકસ ફ્લેજેલાને કારણે ગતિશીલ.
- H_2S ગેસ ઉત્પન્ન કરે છે અને કોલોની "બિલાડી ની આંખ" જેવી દેખાય છે. H_2S ઉત્પાદનને કારણે કોલોની નું બ્લેકનીંગ બતાવે છે.
- ***સાલ્મોનેલ્લા*** ગરમ અને ઠંડા લોહીવાળા પ્રાણીઓના આંતરડામાં રહે છે.
- ***સાલ્મોનેલ્લા***ની બે જાતિઓ છે સાલમોનેલ્લા એન્ટરિકા અને સાલ્મોનેલ્લા બોંગોરી.
- એસ. એન્ટરિકા એ ટાઈપ સ્પીસીસ છે અને તેને છ પેટાજાતિઓમાં વહેંચવામાં આવી છે જેમાં સોમેટિક ઓ અને ફ્લેજેલર એચ એન્ટિજેન્સના આધારે વ્યાખ્યાયિત 2,600 થી વધુ સેરોટાઇપ્સ/સેરોવર શામેલ છે.
- એસ.એન્ટરિકાની છ પેટા પ્રજાતિઓ એસ.ઇ.એન્ટરિકા , એસ.ઇ.સલામી, એસ.ઇ.એરિઝોના, એસ.ઇ.ડાયએરિઝોના, એસ.ઇ.હોટને, અને એસ.ઇ.ઈન્ડીકા.
- સેરોટાઇપનું પૂરું નામ આ રીતે આપવામાં આવ્યું છે , ઉદાહરણ તરીકે , સાલ્મોનેલ્લા એન્ટરિકા સબ એન્ટરિકા સેરોટાઇપ ટાઇફિમ્યુરિયમ , પરંતુ એને સાલ્મોનેલ્લા ટાઇફિમ્યુરિયમ તરીકે સંક્ષેપિત્ત કરી શકાય છે.
- મનુષ્યમાં, સાલમોનેલ્લા બે રોગોનું કારણ બને છે. સાલ્મોનેલોસિસ: એંટરિક ફીવર (ટાઇફોઇડ), જે લોહીના પ્રવાહ માં બેક્ટેરિયલ આક્રમણ ના લીધે થાય છે અને તીવ્ર ગેસ્ટ્રોએન્ટેરાઇટિસ જે ખોરાકજન્ય ચેપ/નશોના પરિણામે થાય છે.
- સાલમોનેલ્લા ફૂડ પોઇઝનિંગના સૌથી વારંવાર સ્રોત મરઘાં , માંસ, દૂધ, ક્રીમ અને ઇંડા છે.

સાલ્મોનેલાની શોધ (સ્રોત: બેક્ટેરિઓલોજિકલ એનાલિટીકલ મેન્યુઅલ , પ્રકરણ 5, ડિસેમ્બર, 2019, યુએસએફડીએ)

1. બિન-પસંદગીયુક્ત સંવર્ધન (પૂર્વ સંવર્ધન): **લેક્ટોઝ બ્રોથ**

2. પસંદગીયુક્ત સંવર્ધન: **ટેટ્રાથાયોનેટ (ટીટી) બ્રોથ અને રેપાપોર્ટ - વેસિલિએડિસ (આરવી) મીડીયમ**

3. પસંદગીયુક્ત પ્લેટિંગ: **એક્સ.એલ.ડી., હેચ. ઈ. એ. અને બી. એસ. એ.**

4. શુદ્ધિકરણ: **મેકકોન્કી અગાર**

5. બાયોકેમિકલ સ્ક્રીનીંગ

6. સેરોલોજીકલ ઓળખ: **પોલીવેલેન્ટ સોમેટિક (ઓ) એન્ટિસેરા**

સાલ્મોનેલાના અલગતા માટે નમૂનાની તૈયારી

- જંતુરહિત રીતે કન્ટેનરમાં 25 ગ્રામના નમૂનાનું વજનપૂર્વક વજન લો.
- 225 મિલી જંતુરહિત લેક્ટોઝ બ્રોથ ઉમેરો અને 2 મિનિટ માટે મિશ્રણ કરો.
- જંતુરહિત રીતે એકરૂપતાવાળા મિશ્રણને જંતુરહિત, વિશાળ મોં-વાળા, સ્ક્રુ-કેપ જાર/ફ્લાસ્ક(500 મિલી) અથવા અન્ય યોગ્ય કન્ટેનરમાં સ્થાનાંતરિત કરો અને ઓરડાના તાપમાને 60 ± 5 મિનિટ રહેવા દો.
- સારી રીતે મિક્સ કરો અને પરીક્ષણ કાગળ થી પીએચ નક્કી કરો.
- પીએચ, જો જરૂરી હોય તો, 6.8 ± 0.2 પર સમાયોજિત કરો.
- સારી રીતે મિક્સ કરો અને જાર કેપને લગભગ 1/4 ઢીલી કરો.
- ઇન્ક્યુબેશન 24 ± 2 કલાક, તાપમાન 35 ° સે.

લેક્ટોઝ બ્રોથ: પૂર્વ સંવર્ધન

- એક પૂર્ણ સંવર્ધન મીડીયમ ઇન્ક્યુબેશન પછી સાલ્મોનેલ્લા નું ઊંચું પ્રમાણ પ્રદાન કરે છે.
- લેક્ટોઝ બ્રોથ સાલ્મોનેલાની પુન:પ્રાપ્તિ માટે અનુકૂળ વાતાવરણ પૂરું પાડે છે.
- મીડિયા ક્ષતિગ્રસ્ત કોષોને પુન :પ્રાપ્ત કરવા મદદ કરે છે, હાજર રહેલા ઝેરી પદાર્થોને પાતળા કરવા અને અન્ય જાતિઓ કરતાં સાલ્મોનેલ્લાના વિકાસની તરફેણ કરે છે.
- મોટાભાગના બિન-સાલ્મોનેલ્લા બેક્ટેરિયા લેક્ટોઝ નું ફેર્મેન્ટેશન કરે છે , જ્યારે સ સાલ્મોનેલ્લા નથી કરતા.
- જ્યારે લેક્ટોઝ- ફર્મેન્ટ કરતા બેક્ટેરિયા માધ્યમમાં લેક્ટોઝને ચયાપચય કરે છે , ત્યારે પી.એચ. ઓછી થાય છે, જે પ્રતિસ્પર્ધીઓ પર બેક્ટેરિયોસ્ટેટિક અસર બનાવે છે.

સાલ્મોનેલાનો અલગતા

પસંદગીયુક્ત સંવર્ધન

- ધીમે ધીમે ઇન્ક્યુબેટેડ નમૂનાને હલાવો.
- 0.1 મિલી મિશ્રણને 10 મિલી રેપ્પોર્ટ-વેસિલીઆડિસ (આરવી) માધ્યમમાં અને બીજું 1 મિલી મિશ્રણ 10 મિલી ટેટ્રાથિઓનેટ (ટીટી) બ્રોથ માં સ્થાનાંતરિત કરો.

- મિક્સ કરો .
- 24 ± 2 કલાક માટે 42 ± 0.2° સે (ફરતા, તાપમાન નિયંત્રિત, વૉટર બાથ) પર આરવી મીડીયમ ઇન્ક્યુબેટ કરો.
- 24 ± 2 કલાક માટે 35 ± 2.0° સે તાપમાને ટીટી બ્રોથને ઇન્ક્યુબેટ કરો.

પસંદગીયુક્ત પ્લેટિંગ

- બિસ્મથ સલ્ફાઇટ(બીએસ) અગાર, ઝાયલોઝ લાઇસિન ડેસો કસીકોલેટ (એક્સએલડી) અગાર અને હેક્ટોન ઇન્ટરિક (હે) અગાર પર ઇનક્યુબેટેડ ટીટી બ્રોથ માંથી મિક્સ કરી ને 3 મીમી લૂપફૂલ (10 μl) કલચર સ્ટ્રીક કરો.
- બીએસ પ્લેટો સ્ટ્રીકિંગના એક દિવસ પહેલા તૈયાર કરો અને સ્ટ્રીક થાય ત્યાં સુધી ઓરડાના તાપમાને અંધારામાં સ્ટોર કરો.
- આરવી મીડીયમ ના 3 મીમી લૂપફૂલ (10 μl) સાથે પુનરાવર્તન કરો.
- 35° સે પર 24± 2 કલાક ઇન્ક્યુબેટ કરો.
- કોલોની ની હાજરી માટે પ્લેટોની તપાસ કરો **સાલ્મોનેલ્લા** હોઈ શકે છે.

લાક્ષણિક સાલ્મોનેલા ની કોલોની નો દેખાવ

- 24 ± 2 કલાક ઇન્ક્યુબેશન પછી દરેક પસંદગીયુક્ત અગારમાંથી **સાલ્મોનેલાની** 2 અથવા વધુ કોલોની પસંદ કરો.
- લાક્ષણિક સાલ્મોનેલા **કોલોની** માં નીચેની લાક્ષણિકતાઓ હશે:
- **બિસ્મથ સલ્ફાઇટ (બીએસ) અગાર**: બ્રાઉન, ગ્રે અથવા બ્લેક કોલોનીઓ; કેટલીકવાર તેમની પાસે ધાતુ જેવી ચમક હોય છે. આસપાસનું માધ્યમ સામાન્ય રીતે પ્રથમ ભૂરા રંગ નું હોય છે, પરંતુ વધતા સેવન સાથે કાળું થઈ શકે છે, કહેવાતી પ્રભામંડળ અસર ઉત્પન્ન કરે છે.
- **હેક્ટોન એંટરિક (હેચઈ) અગાર**: કાળા કેન્દ્રો સાથે અથવા તેના વિના, વાદળી-લીલાથી વાદળી કોલોની. સાલ્મોનેલાની ઘણી સંસ્કૃતિઓ મોટા, ચળકતા કાળા કેન્દ્રોવાળી કોલોની નું નિર્માણ કરી શકે છે અથવા લગભગ સંપૂર્ણપણે કાળી કોલોની તરીકે દેખાઈ શકે છે.
- **ઝાયલોઝ લાઇસિન ડેસોકસીકોલેટ (એક્સએલડી) અગાર**: કાળા કેન્દ્રો સાથે અથવા વગર ની ગુલાબી કોલોની. સાલ્મોનેલાની ઘણી સંસ્કૃતિઓ મોટા, ચળકતા કાળા કેન્દ્રોવાળી કોલોની નું નિર્માણ કરી શકે છે અથવા લગભગ સંપૂર્ણપણે કાળી કોલોની તરીકે દેખાઈ શકે છે.

ટ્રીપલ સુગર આયર્ન અગાર (TSI) અને લાઇસિન આયર્ન અગાર (LIA)

- જંતુરહિત ઇનોક્યુલેટિંગ સોયથી કોલોની ની મધ્યમાં થોડું સ્પર્શ કરો અને ટી.એસ.આઈ. સ્લેંટને સ્ટ્રીક કરી અને બટ્ટ ને સ્ટેબ કરીને ઇનોક્યુલેટ કરો.
- ફ્લેમ કર્યા વિના, એલઆઈએ સ્લેંટને બે વાર બટ્ટથી સ્ટેબ કરીને ઇનોક્યુલેટ કરો અને પછી સ્લેંટને સ્ટ્રીક કરો.
- લાઇસિન ડિકારબોક્સિલેશન પ્રતિક્રિયા સખત રીતે એનારોબિક હોવાથી , એલઆઈએ સ્લેંટમાં ઊંડા બટ (4 સે.મી.) હોવા જોઈએ.
- 5-8 ° સે તાપમાને પસંદ કરેલી અગાર પ્લેટો સ્ટોર કરો.
- 35° સે પર 24± 2 કલાક ઇન્ક્યુબેટ કરો.
- એરોબિક પરિસ્થિતિઓને જાળવવા માટે ઢીલી કેપ ટ્યુબ, જ્યારે વધુ પડતા H_2S ઉત્પાદનને રોકવા માટે સ્લેંટને ઇન્ક્યુબેટીંગ કરવું.
- ટી.એસ.આઈ. માં સાલ્મોનેલ્લા સામાન્ય રીતે આલ્કલાઇન (લાલ) સ્લેંટ અને એસિડ (પીળો) બટ્ટ ઉત્પન્ન કરે છે, H_2S (અગાર કાળા થવું) ના ઉત્પાદન સાથે અથવા વગર.
- એલઆઈએમાં, સાલ્મોનેલ્લા સામાન્ય રીતે બટ્ટમાં આલ્કલાઇન(જાંબલી) પ્રતિક્રિયા ઉત્પન્ન કરે છે. એસિડિક(નકારાત્મક) પ્રતિક્રિયા તરીકે બટ્ટ માં ફક્ત અલગ પીળો રંગ ધ્યાનમાં લો.
- મોટાભાગના સાલ્મોનેલા ક્લચર એલઆઇએમાં H_2S ઉત્પન્ન કરે છે.
- બધા ક્લચર કે જે એલઆઇએમાં આલ્કલાઇન બટ આપે છે , ટીએસઆઈની પ્રતિક્રિયાને ધ્યાનમાં લીધા વિના , તેને સંભવિત સાલ્મોનેલ્લા તરીકે અલગ રાખવું જોઈએ અને બાયોકેમિકલ અને સેરોલોજીકલ પરીક્ષણો માટે સબમિટ કરવું જોઈએ.
- બધા ક્લચર કે જે એલઆઈએમાં એસિડ બટ આપે છે અને ટીએસઆઈમાં આલ્કલાઇન સ્લેંટ અને એસિડ બટ પણ સંભવિત સાલ્મોનેલ્લા આઇસોલેટ્સ માનવામાં આવ વા જોઈએ અને બાયોકેમિકલ અને સેરોલોજીકલ પરિક્ષણો માટે સબમિટ કરવા જોઈએ.
- બધા ક્લચર કે જે એલઆઈએમાં એસિડ બટ આપે છે અને ટીએસઆઈમાં એસિડ સ્લેંટ અને એસિડ બટ આપે છે તે સાલ્મોનેલા ન હોવાને કારણે ફેંકી શકાય છે.

બાયોકેમિકલ અને સેરોલોજીકલ ઓળખ પરીક્ષણો આના પર લાગુ કરો:

એ.) આરવી માધ્યમથી સ્ટ્રેક્ડ પ્લેટોના સેટમાંથી, જો હાજર હોય તો, ત્રણ સંભવિત ટીએસઆઈ અગાર ક્લચર, અને ટીટી બ્રોથમાંથી સ્ટ્રેક્ડ પ્લેટોમાંથી જો હાજર હોય તો , ત્રણ સંભવિત ટીએસઆઈ ક્લચર.

બી.) જો 3 અનુમાનિત-સકારાત્મક ટી.એસ.આઇ. ક્લચરને અગાર પ્લેટોના એક સેટથી આઇસોલેટ ના થાય તો, બાયોકેમિકલ અને સેરોલોજીકલ પરીક્ષણો દ્વારા આઇસોલેટ થયેલા અન્ય

અનુમાનિત-સકારાત્મક ટી.એસ.આઈ. અગાર ક્લચરનું પરીક્ષણ કરો , દરેક 25 ગ્રામ વિશ્લેષણાત્મક એકમ અથવા દરેક 375 ગ્રામ સંયુક્ત માટે ઓછામાં ઓછી 6 ટી.એસ.આઇ. ક્લચરનું પરીક્ષણ કરો.

સાલ્મોનેલ્લાની ઓળખ

1. મિશ્ર ક્લચર

- ટીએસઆઈ અગાર ક્લચર કે જે ભળી ગયેલ હોય તેવું લાગે છે તેમને મેકોનકી અગાર, એચઈ અગાર કે એક્સએલડી અગાર પર સ્ટ્રીક કરો.
- 35° સે પર 24± 2 કલાક ઇન્ક્યુબેટ કરો.
- **સાલ્મોનેલ્લા** હોવાની શંકાસ્પદ કોલોનીની હાજરી માટે પ્લેટોની તપાસ કરો.
- મેકોનકી અગાર: લાક્ષણિક કોલોની પારદર્શક અને રંગહીન દેખાય છે , કેટલીકવાર શ્યામ કેન્દ્રની સાથે.

2. શુદ્ધ ક્લચર

યૂરીએઝ પરીક્ષણ (પરંપરાગત)

- જંતુરહિત સોય સાથે, દરેક અનુમાનિત પોઝિટિવ ટીએસઆઈ સ્લેંટ ક્લચર માંથી યુરિયા બ્રોથ ટ્યુબમાં વૃદ્ધિને ઇનોક્યુલેટ કરો.
- પ્રસંગોપાત, યુરિયા બ્રોથની અનઇનોક્યુલેટેડ ટ્યુબ જાંબુડિયા-લાલ (હકારાત્મક પરીક્ષણ) રંગમા ફેરવાય છે, તેથી આ બ્રોથની અનઇનોક્યુલેટેડ ટ્યુબને નિયંત્રણ તરીકે રાખવામાં આવે છે.
- 35° સે પર 24± 2 કલાક ઇન્ક્યુબેટ કરો.
- **યૂરીએઝ** પરીક્ષણનો ઉપયોગ એન્ઝાઇમ **યૂરીએઝ**નો ઉપયોગ કરીને યુરિયાને હાઈડ્રોલિસિસ કરવામાં સક્ષમ બેક્ટેરિયાને ઓળખવા માટે થાય છે.
- યુરિયાના નું હાઈડ્રોલિસિસ એ તેના ઉત્પાદનોમાંના એક તરીકે નબળા બેઝ, એમોનિયા બનાવે છે.
- આ નબળો બેઝ મીડિયાના પીએચને 8.4 ની ઉપર વધારે છે અને પીએચ સૂચક, ફિનોલ રેડ, પીળાથી ગુલાબી થાય છે.
- સાલ્મોનેલા **યૂરીએઝ** -નેગેટિવ છે.

સેરોલોજિકલ પોલિવેલેન્ટ ફ્લેજેલર (એચ) પરીક્ષણ

એ.) દરેક **યૂરીએઝ** -નેગેટિવ ટીએસઆઈ અગાર સ્લેંટમાંથી વૃદ્ધિને

1) દૃશ્યમાન વૃદ્ધિ થાય ત્યાં સુધી , BHI બ્રોથમા ઇનોક્યુલેટ કરો અને 4-6 કલાક 35° સે પર તાપમાને ઇન્ક્યુબેટ કરો. (તે જ દિવસે પરીક્ષણ કરવા માટે);

2) અથવા ટ્રિપ્ટીકેઝ સોયા-ટ્રિપ્ટોઝ બ્રોથમા ઇનોક્યુલેટ કરો અને 24 ± 2 કલાક 35 ° સે (આગલા દિવસે ચકાસવા માટે) તાપમાને ઇન્ક્યુબેટ કરો.

બ્રોથ ક્લચરના 5 મિલીમાં 2.5 મિલી ફોર્મલીનાઈઝડ ફિઝિયોલોજિકલ સલાઈન સોલ્યુશન ઉમેરો.

બી.) 2 ફોર્મલીનાઈઝડ બ્રોથ ક્લચર પસંદ કરો અને સ સાલ્મોનેલ્લા પોલિવેલેન્ટ ફ્લેજેલર (એચ) એન્ટિસેરા સાથે પરીક્ષણ કરો.

- 10 X 75મીમી અથવા 13 x 100મીમી સેરોલોજીકલ ટેસ્ટ ટ્યુબમાં યોગ્ય રીતે ડાઇલ્યુટ કરેલ સાલ્મોનેલ્લા પોલિવેલેન્ટ ફ્લેજેલર(એચ) એન્ટિસેરમના 0.5 મિલી મૂકો.
- પરીક્ષણ કરવા માટે 0.5 મિલી એન્ટિજેન ઉમેરો.
- 0.5 મિલી ફોર્મલીનાઈઝડ ફિઝિયોલોજિકલ સલાઈન માં 0.5 મિલી ફોર્મલીનાઈઝડ એન્ટિજેન સાથે મિશ્રણ કરીને સલાઈન નિયંત્રણની તૈયારી કરો.
- 48-50 ° સે વોટર બાથમાં મિશ્રણ ઇન્ક્યુબેટ કરો.
- 15 મિનિટના અંતરાલો પર અવલોકન કરો અને અંતિમ પરિણામો 1 કલાકે વાંચો

સકારાત્મક - પરીક્ષણ મિશ્રણમાં એગ્લુટિનેશન અને નિયંત્રણમાં કોઈ એગ્લુટિનેશન નથી.

નકારાત્મક - પરીક્ષણ મિશ્રણમાં કોઈ એગ્લુટિનેશન નહીં અને નિયંત્રણમાં કોઈ એગ્લુટિનેશન નહીં.

- જે ક્લચર પરીક્ષણ મિશ્રણમાં **એગ્લુટિનેશન** દર્શાવે છે અને નિયંત્રણમાં કોઈ **એગ્લુટિનેશન** નથી તેને સકારાત્મક તરીકે લેવામાં આવે છે અને આગળના બાયોકેમિકલ પરીક્ષણો માટે ચાલુ રાખવામાં આવે છે.

વધારાના બાયોકેમિકલ પરીક્ષણો

(યૂરીએઝ -નેગેટિવ ક્લચરનું પરીક્ષણ)

એ.) લાઇસિન ડિકારબોક્સીલેઝ બ્રોથ:

- જો એલઆઇએ પરીક્ષણ સંતોષકારક હતું, તો તેને પુનરાવર્તિત કરવાની જરૂર નથી.
- જો ક્લચર શંકાસ્પદ એલ.આઇ.એ. પ્રતિક્રિયા આપે તો લાઇસિન ડિકારબોક્સીલેઝના અંતિમ નિર્ણય માટે લાઇસિન ડિકારબોક્સીલેઝ બ્રોથનો ઉપયોગ કરો.
- સાલ્મોનેલા માટે શંકાસ્પદ ટીએસઆઈ સ્લેંટથી ઓછી માત્રામાં બ્રોથ ને ઇનોક્યુલેટ કરો.

- કેપને સખ્તાઇથી બંદ કરો અને 35 ° સે તાપમાને 48±2 કલાક સુધી ઇન્ક્યુબેટ કરો પરંતુ 24 કલાકના અંતરાલો પર પરીક્ષણ કરો.
- સાલ્મોનેલા પ્રજાતિઓ આખા મીડીયમ માં ફેલાય જતા જાંબલી રંગ દ્વારા સૂચવવામાં આવતી આલ્કલાઇન પ્રતિક્રિયાનું કારણ બને છે.
- નકારાત્મક પરીક્ષણ પીળા રંગ દ્વારા સૂચવવામાં આવે છે.
- જો માધ્યમ રંગીન દેખાય છે (જાંબુડિયા કે પીળો નથી) તો 0.2% બ્રોમોક્રેસોલ પર્પલના થોડા ટીપાં ઉમેરો અને ટ્યુબ રિએક્શન ફરીથી વાંચો.

બી.) ફિનોલ રેડ ડલ્સીટોલ બ્રોથ અથવા પર્પલ બ્રોથ બેઝ 0.5% ડલ્સીટોલ સાથે:

- ટી.એસ.આઇ. ક્લચરમાંથી નાના પ્રમાણમાં વૃદ્ધિ સાથે **બ્રોથ** ઇનોક્યુલેટ કરો.
- કેપને ઢીલી કરો અને 48 ± 2 કલાક 35 ° સે તાપમાને ઇન્ક્યુબેટ કરો, પરંતુ 24 કલાક પછી પરીક્ષણ કરો.
- મોટાભાગની સાલ્મોનેલા પ્રજાતિઓ હકારાત્મક પરીક્ષણ આપે છે , જે આંતરિક ફર્મેન્ટેશન વાયલમાં ગેસ અને એસિડ પીએચ (માધ્યમમાં પીળા રંગ) દ્વારા સૂચવવામાં આવે છે.
- એસિડનું ઉત્પાદન સકારાત્મક પ્રતિક્રિયા તરીકે અર્થઘટન થવું જોઈએ.
- નકારાત્મક પરીક્ષણ આંતરીક ફર્મેન્ટેશન વાયલમાં કોઈ ગેસનથી અને લાલ (સૂચક તરીકે ફિનોલ **રેડ** સાથે) અથવા જાંબુડિયા (સૂચક તરીકે બ્રોમોક્રેસોલ **પર્પલ** સાથે) રંગ દ્વારા સૂચવવામાં આવે છે.

સી.) ટ્રિપ્ટોન (અથવા ટ્રિપ્ટોફેન) બ્રોથ:

- ટી.એસ.આઈ. અગાર ક્લચરમાંથી નાના વિકાસ સાથે **બ્રોથ** ઇનોક્યુલેટ કરો.
- 35 °સે તાપમાને 24±2 કલાક સુધી ઇન્ક્યુબેટ કરો અને નીચે મુજબ આગળ વધો:

1.) પોટેશિયમ સાયનાઇડ (કેસીએન) બ્રોથ:

- ટ્રીપ્ટોફેન બ્રોથ માંથી કલ્ચરની 3 મીમી લૂપફૂલને કેસીએન બ્રોથ પર સ્થાનાંતરિત કરો.
- ટ્યુબની રિમને ગરમ કરો જેથી મીણ-કોટેડ કોર્કથી ટ્યુબ અટકી જાય ત્યારે સારી સીલ રચાય.
- 48 ± 2 કલાક 35 ° સે તાપમાને ઇન્ક્યુબેટ કરો, પરંતુ 24 કલાક પછી પરીક્ષણ કરો.

- વૃદ્ધિનું અર્થઘટન (ટર્બીડીટી દ્વારા સૂચવાયેલ) સકારાત્મક તરીકે.
- મોટાભાગની સાલ્મોનેલા પ્રજાતિઓ આ માધ્યમમાં વૃદ્ધિ નથી કરતા જે ટર્બીડીટી અભાવ થી સૂચિત થાય છે.

2.) મેલોનેટ બ્રોથ:

- ટ્રીપ્ટોફેન બ્રોથ માંથી કલ્ચરની 3 મીમી લૂપફૂલને **મેલોનેટ** બ્રોથ પર સ્થાનાંતરિત કરો.
- પ્રસંગોપાત, મેલોનેટ બ્રોથની અનઇનોક્યુલેટેડ ટ્યુબ વાદળી (હકારાત્મક પરીક્ષણ) રંગમા ફેરવાય છે, તેથી આ બ્રોથની અનઇનોક્યુલેટેડ ટ્યુબનેનિયંત્રણ તરીકે રાખવામાં આવે છે.
- 48 ± 2 કલાક 35 ° સે તાપમાને ઇન્ક્યુબેટ કરો, પરંતુ 24 કલાક પછી પરીક્ષણ કરો.
- મોટાભાગની સાલ્મોનેલા પ્રજાતિ આ બ્રોથ માં નકારાત્મક પરીક્ષણ (લીલો અથવા અપરિવર્તિત રંગ) આપે છે.

3.) ઇન્ડોલ પરીક્ષણ:

- ટ્રિપ્ટોફેન બ્રોથના 24 કલાક જુના ક્લચરની 5 મિલીને ખાલી પરીક્ષણ ટ્યુબમાં સ્થાનાંતરિત કરો.
- 0.2 -0.3 મિલી કોવાક્સના રીએજન્ટ ઉમેરો.
- મોટાભાગની સાલ્મોનેલાની પ્રજાતિ નકારાત્મક પરીક્ષણ આપે છે (બ્રોથની સપાટી પર લાલ રંગનો અભાવ).
- નારંગી અને ગુલાબી રંગને મધ્યવર્તી શેડ્સ તરીકે રેકોર્ડ કરો.

4). સાલ્મોનેલા માટે સેરોલોજીકલ ફ્લેજેલર (એચ) પરીક્ષણો:

જો પોલિવેલેંટ ફ્લેજેલર (એચ) પરીક્ષણ કરવામાં આવ્યું ન હોય , તો તે અહીં કરવામાં આવી શકે છે.

5.) સાલ્મોનેલા તરીકે કોઈપણ ક્લચરને છોડી દો નહીં કે જે ક્યાં તો સકારાત્મક **ઇન્ડોલ** પરીક્ષણ અને નકારાત્મક સેરોલોજીકલ ફ્લેજેલર (એચ) પરીક્ષણ , અથવા હકારાત્મક કેસીએન પરીક્ષણ અને નકારાત્મક લાઇસિન ડીકાર્બોક્સિલેઝ પરીક્ષણ બતાવે છે.

- **સાલ્મોનેલા માટે સેરોલોજીકલ સોમેટિક (ઓ) પરીક્ષણો**
- **પોલિવેલેંટ સોમેટિક (ઓ) પરીક્ષણ:**

- મીણ પેંસિલનો ઉપયોગ કરીને, ગ્લાસ અથવા પ્લાસ્ટિક પેટ્રી ડીશ (15 x 100 મીમી) ની અંદરના ભાગોમાં લગભગ 1 x 2 સે.મી.ના 2 ભાગોને ચિહ્નિત કરો.
- વ્યાપારી રૂપે ઉપલબ્ધ વિભાગીય સ્લાઇડ્સનો ઉપયોગ થઈ શકે છે.
- 24-48 કલાક જુના TSI સ્લેંટ અથવા, પ્રાધાન્યમાં, ટ્રિપટોઝ બ્લડ અગાર બેઝ(લોહી વિના) ના 3 મિમી લૂપફુલ ક્લચરને 2 મિલી 0.85% સલાઈન સાથે, પ્રવાહી બનાવો.
- દરેક લંબચોરસ ચિન્હિત વિભાગના ઉપલા ભાગમાં ક્લચર સસ્પેન્શનનો 1 ડ્રોપ ઉમેરો.
- માત્ર એક જ વિભાગના નીચલા ભાગમાં સલાઈન સોલ્યુશનનો 1 ડ્રોપ ઉમેરો.
- ફક્ત અન્ય વિભાગમાં સાલ્મોનેલા પોલિવેલેંટ સોમેટિક (ઓ) એન્ટિસેરમનો 1 ડ્રોપ ઉમેરો.
- સ્વચ્છ જંતુરહિત સ્થાનાંતરણ લૂપ અથવા સોય સાથે , એક વિભાગ માટે સલાઈન દ્રાવણ સાથે ક્લચર સસ્પેન્શનને મિક્સ કરો અને એન્ટિસેરમ ધરાવતા અન્ય વિભાગ માટે પુનરાવર્તન કરો.
- 1-1 મિનિટ માટે આગળ અને પાછળની ગતિમાં મિશ્રણોને હલાવો અને સારી રોશનીમાં શ્યામ પૃષ્ઠભૂમિ સામે અવલોકન કરો.
- કોઈપણ પ્રકાર ના એગ્લુટિનેશન ને હકારાત્મક પ્રતિક્રિયા ધ્યાનમાં લો.
- પોલિવેલેન્ટ સોમેટિક (ઓ) પરીક્ષણ પરિણામો નીચે મુજબ વર્ગીકૃત કરો:

સકારાત્મક - પરીક્ષણ મિશ્રણમાં **એગ્લુટિનેશન**; સલાઈન નિયંત્રણમાં કોઈ **એગ્લુટિનેશન** નથી.
નેગેટિવ - પરીક્ષણ મિશ્રણમાં કોઈ **એગ્લુટિનેશન** નહીં; સલાઈન નિયંત્રણમાં કોઈ **એગ્લુટિનેશન** નથી.

વધારાના બાયોકેમિકલ પરીક્ષણો: સાલ્મોનેલા તરીકે વર્ગીકૃત કરો, તે ક્લચર, જે નીચે આપેલા કોષ્ટકમાં બતાવ્યા પ્રમાણે, **1-11** ના પરીક્ષણો માટે લાક્ષણિક સાલ્મોનેલ્લા પ્રતિક્રિયાઓ દર્શાવે છે.

સાલ્મોનેલાની બાયોકેમિકલ અને સેરોલોજીકલ પ્રતિક્રિયાઓ			
પરીક્ષણ અથવા સબસ્ટ્રેટ	**પરિણામ**		**સાલ્મોનેલા પ્રજાતિઓ ની પ્રતિક્રિયા (એ)**
	હકારાત્મક	**નકારાત્મક**	

ગ્લુકોઝ (TSI)	યલો બટ્ટ	રેડ બટ્ટ	+
લાઇસિન ડીકાર્બોક્સીલેઝ (એલઆઈએ)	પર્પલ બટ્ટ	યલો બટ્ટ	+
H_2S (ટી.એસ.આઈ. અને એલ.આઈ.એ.)	બ્લેકનીંગ	બ્લેકનીંગ નહીં	+
યુરીએઝ	જાંબલી-લાલ રંગ	કોઈ રંગ ફેરફાર નથી	–
લાઇસિન ડીકાર્બોક્સીલેઝ બ્રોથ	જાંબલી રંગ	પીળો રંગ	+
ફિનોલ રેડ ડલ્સીટોલ બ્રોથ	પીળો રંગ અને / અથવા ગેસ	ગેસ નથી; કોઈ રંગ ફેરફાર નથી	+ (b)
કેસીએન બ્રોથ	વૃદ્ધિ	કોઈ વૃદ્ધિ નહીં	–
મેલોનેટ બ્રોથ	બ્લુ કલર	કોઈ કલર બદલાતો નથી	– (c)
ઇન્ડોલ પરીક્ષણ	સપાટી પર વાયોલેટ રંગ	સપાટી પર પીળો રંગ	–
પોલિવેલેન્ટ ફ્લેજેલર પરીક્ષણ	એગ્લુટિનેશન	કોઈ એગ્લુટિનેશન નહિ	+
પોલીવેલન્ટ સોમેટિક કસોટી	એગ્લુટિનેશન	કોઈ એગ્લુટિનેશન નહિ	+
ફિનોલ રેડ લેક્ટોઝ બ્રોથ	પીળો રંગ અને / અથવા ગેસ	ગેસ નથી; કોઈ રંગ ફેરફાર નહિ	– (c)
ફિનોલ રેડ સુક્રોઝ બ્રોથ	પીળો રંગ અને / અથવા ગેસ	ગેસ નથી; કોઈ રંગ ફેરફાર નહિ	–
વોગસ-પ્રોસ્કૌર કસોટી	ગુલાબી થી લાલ રંગ	કોઈ રંગ ફેરફાર નહિ	–
મિથાઇલ રેડ પરીક્ષણ	લાલ રંગ નો	પીળા રંગ નો	+

	ફેલાવો	ફેલાવો	
સિમોન્સ સાઇટ્રેટ	વૃદ્ધિ; વાદળી રંગ	વૃદ્ધિ નહીં; કોઈ રંગ ફેરફાર નહિ	v
(એ) +, 90% અથવા વધુ 1 અથવા 2 દિવસમાં હકારાત્મક; -, 1 અથવા 2 દિવસમાં 90% અથવા વધુ નકારાત્મક; v, પરિવર્તનશીલ (b). મોટાભાગની એસ. એરિઝોના કલચર નકારાત્મક છે અને (c) બહુમતી એસ. એરિઝોના કલચર સકારાત્મક છે.			

એ. ફિનોલ રેડ લેક્ટોઝ બ્રોથ અથવા પર્પલ લેક્ટોઝ બ્રોથ

- ટી.એસ.આઇ. ક્લચરમાંથી નાના પ્રમાણમાં વૃદ્ધિ સાથે **બ્રોથ** ઇનોક્યુલેટ કરો.
- 48 ± 2 કલાક 35 ° સે તાપમાને ઇન્ક્યુબેટ કરો, પરંતુ 24 કલાક પછી પરીક્ષણ કરો.
- આંતરિક ફર્મેન્ટેશન વાયલમાં ગેસ અને એસિડના ઉત્પાદનને (માધ્યમમાં પીળા રંગ) સકારાત્મક પ્રતિક્રિયા તરીકે ધ્યાનમાં લો.
- સાલ્મોનેલાની મોટાભાગની પ્રજાતિઓ નકારાત્મક પરીક્ષણ પરિણામ આપે છે , જે માધ્યમ દરમ્યાન આંતરીક ફર્મેન્ટેશન વાયલમાં કોઈ ગેસ નથી અને લાલ (સૂચક તરીકે ફિનોલ **રેડ** સાથે) અથવા જાંબુડિયા (સૂચક તરીકે બ્રોમોક્રેસોલ **પર્પલ** સાથે) રંગ દ્વારા સૂચવવામાં આવે છે
- જે સકારાત્મક લેક્ટોઝ પરીક્ષણ આપે છે તેવા ક્લચર ને સાલ્મોનેલા નથી એમ સમજી ને ડિસ્કાર્ડ કરો અને જે ક્લચર ટી.એસ.આઈ. માં એસિડ સ્લેંટ આપે છે અને એલ.આઇ.એ. માં સકારાત્મક પ્રતિક્રિયાઓ આવે છે, અથવા કે જે સકારાત્મક મેલોનેટ બ્રોથ રિએક્શન આપે છે તે એસ. એરિઝોના છે કે કેમ તે નક્કી કરવા માટે આગળ પરીક્ષણો કરો.

બી. ફિનોલ રેડ સુક્રોઝ બ્રોથ અથવા પર્પલ સુક્રોઝ બ્રોથ

- ટી.એસ.આઇ. ક્લચરમાંથી નાના પ્રમાણમાં વૃદ્ધિ સાથે **બ્રોથ** ઇનોક્યુલેટ કરો.
- 48 ± 2 કલાક 35 ° સે તાપમાને ઇન્ક્યુબેટ કરો, પરંતુ 24 કલાક પછી પરીક્ષણ કરો.
    - **જે સકારાત્મક સુક્રોઝ પરીક્ષણો આપે છે** તેવા ક્લચર ને સાલ્મોનેલા નથી એમ સમજી ને ડિસ્કાર્ડ કરો.

સી. એમઆર-વી.પી.

- ટી.એસ.આઇ. ક્લચરમાંથી નાના પ્રમાણમાં વૃદ્ધિ સાથે **બ્રોથ** ઇનોક્યુલેટ કરો.
- 48 ± 2 કલાક 35 ° સે તાપમાને ઇન્ક્યુબેટ કરો.

1) ઓરડાના તાપમાને વોગસ-પ્રોસ્કૌર પરીક્ષણ નીચે પ્રમાણે કરો:

- ટ્યુબની ચકાસણી કરવા માટે 1 મિલી 48 કલાકની ક્લચર સ્થાનાંતરિત કરો અને એમઆર-વીપી બ્રોથની બાકીની ટ્યુબ 48 કલાક 35 ° સે તાપમાને ઇન્ક્યુબેટ કરો.
  - 0.6 મિલી α-નેફ્થોલ ઉમેરો અને સારી રીતે શેક કરો.
  - 0.2 મિલી 40% KOH સોલ્યુશન ઉમેરો અને શેક કરો.
  - પ્રતિક્રિયા વેગ આપવા માટે, ક્રિએટાઇનના થોડા સ્ફટિકો ઉમેરો.
  - 4 કલાક પછી પરિણામો વાંચો ; માધ્યમ દરમ્યાન ગુલાબીથી રૂબી લાલ રંગનો વિકાસ એ સકારાત્મક પરીક્ષણ છે.
  - સાલ્મોનેલાની મોટાભાગની પ્રજાતિઓ વી.પી.-નેગેટિવ હોય છે , જે **બ્રોથ** દરમ્યાન ગુલાબીથી લાલ રંગના વિકાસની ગેરહાજરી દ્વારા સૂચવવામાં આવે છે.

2) નીચે પ્રમાણે મિથાઈલ **રેડ** પરીક્ષણ કરો:

- એમઆર-વીપી બ્રોથના 5 મિલી મા, મિથાઇલ **રેડ** સૂચકના 5-6 ટીપાં ઉમેરો.
- પરિણામો તરત જ વાંચો.
- મોટાભાગની સાલ્મોનેલા પ્રજાતિઓ સકારાત્મક પરીક્ષણ આપે છે , જે માધ્યમમાં ફેલાયેલા લાલ રંગ દ્વારા સૂચવવામાં આવે છે.
- એક સ્પષ્ટ પીળો રંગ નકારાત્મક પરીક્ષણ છે.
  - જે ક્લચર હકારાત્મક કેસીએન અને વીપી પરીક્ષણો આપે છે અને નકારાત્મક મિથાઈલ **રેડ** પરીક્ષણ તેવા ક્લચર ને સાલ્મોનેલા નથી એમ સમજી ને ડિસ્કાર્ડ કરો.

3. સિમોન્સ સાઇટ્રેટ અગાર

- ટી.એસ.આઇ. ક્લચરમાંથી સોયનો ઉપયોગ કરી **સિમોન્સ સાઇટ્રેટ** અગાર ઇનોક્યુલેટ કરો.
- સ્લેંટ ને સ્ટ્રીક કરો અને બટ્ટ ને સ્ટેબ કરી ઇનોક્યુલેટ કરો
- 35 ° સે પર 96 ± 2 ક માટે ઇન્ક્યુબેટ કરો.
- પરિણામો નીચે પ્રમાણે વાંચો: સામાન્ય રીતે લીલા રંગથી વાદળી રંગમાં ફેરફાર સાથે વૃદ્ધિની સકારાત્મક-હાજરી,.
- સાલ્મોનેલાની મોટાભાગની પ્રજાતિઓ સાઇટ્રેટ-પોઝિટિવ છે.

સાલ્મોનેલ્લાની શોધ (સ્રોત: આઇએસઓ 6579-1: 2017 (ઇ))

આ પદ્ધતિ મુજબ, **સાલ્મોનેલ્લાની શોધ** માટે ચાર તબક્કાઓની આવશ્યકતા છે.

1. બિન-પસંદગીયુક્ત પ્રવાહી માધ્યમમાં પૂર્વ-સંવર્ધન

- નમૂના + બફર્ડ પેપ્ટોન વોટર (બીપીડબલ્યુ)
- 34 ° સે થી 38 ° સે તાપમાને 18 ± 2 ક માટે ઇન્ક્યુબેશન.

2. પસંદગીયુક્ત માધ્યમોમાં/પર સમૃદ્ધિ

- 0.1 મિલી ક્લચર + 10 મીલી આરવીએસ **બ્રોથ** અથવા એમએસઆરવી અગાર
- આરવીએસ: સોયા સાથેનું રેપપોર્ટ-વેસિલીઆડિસ માધ્યમ
- એમએસઆરવી: સુધારેલા અર્ધ-નક્કર રેપપોર્ટ -વેસિલીઆડિસ
- 24 ± 3 ક માટે 41.5 ° સે ± 1 ° સે
- 1 મિલી ક્લચર + 10 મિલી એમકેટીટીન બ્રોથ
- એમકેટીટીએન: મુલર કોફમેન ટેટ્રાથાયોનેટ -નોવોબિઓસિન
- 24 ± 3 ક માટે સેલ્સિયસ 37 ± 1 ° સે.

3. પસંદગીયુક્ત સોલિડ મીડિયા પર પ્લેટિંગ

- પ્રાપ્ત ઉછેરોમાંથી, બે પસંદગીયુક્ત ઘન માધ્યમો ઇનોક્યુલેટ કરો
    - ઝાયલોઝ લાઇસિન ડેસોકસીકોલેટ અગાર (એક્સએલડી અગાર)
    - એક્સએલડી અગારની કોઈપણ અન્ય નક્કર પસંદગીયુક્ત માધ્યમ.
    - એક્સએલડી અગાર 24 ± 3 ક માટે 37 ± 1 ° સે.
    - એક્સએલડી અગાર પરના સાલ્મોનેલાની લાક્ષણિક કોલોનીમાં કાળો કેન્દ્ર અને લાલ રંગનો થોડો પારદર્શક ઝોન હોય છે જે સૂચકના રંગમાં ફેરફારને કારણે છે.

4. પુષ્ટિ

- અનુમાનિત સાલ્મોનેલાની કોલોની ને સબ ક્લચર કરો અને તેમની ઓળખ યોગ્ય બાયોકેમિકલ અને સેરોલોજીકલ પરિક્ષણો દ્વારા કરો.
- સાલ્મોનેલા સ્ટ્રેઇન્સના ઓળખ માટે, સંપૂર્ણ સેરોટાઇપિંગ જરૂરી છે.

પુષ્ટિ માટે કોલોની નું ચયન

- દરેક પ્લેટ પર શંકાસ્પદ કોલોનીને ચિહ્નિત કરો
- સબકલ્ચર અને પુષ્ટિ માટે ઓછામાં ઓછી 1 લાક્ષણિક અથવા શંકાસ્પદ કોલોની પસંદ કરો
- જો આ નકારાત્મક છે , તો સંભવિત વૃદ્ધિ દર્શાવતી વિવિધ પસંદગીયુક્ત સંવર્ધન/ અલગતા માધ્યમ સંયોજનોમાંથી આ કોલોની સબકલ્ચર છે તેની ખાતરી કરતાં વધુ 4 જેટલી શંકાસ્પદ કોલોનીઓ પસંદ કરો.

બિન-પસંદગીયુક્ત અગાર માધ્યમ

- પસંદ કરેલી કોલોનીને પૂર્વ સૂકવેલા બિન-પસંદગીયુક્ત અગાર માધ્યમની સપાટી પર સ્ટ્રીક કરો.
- 34 ° સે થી 38 ° સે તાપમાને 24 ± 3 ક માટે ઇન્ક્યુબેશન કરો..
- વૈકલ્પિક રીતે, જો પસંદગીયુક્ત પ્લેટિંગ માધ્યમો પર સારી રીતે અલગ કોલોનીઓ ઉપલબ્ધ હોય, તો બાયોકેમિકલ પુષ્ટિ સીધા શંકાસ્પદ , પસંદીદા પ્લેટિંગ માધ્યમથી અલગ-અલગ કોલોની પર કરી શકાય છે.
- બિન-પસંદગીયુક્ત અગાર માધ્યમ પરનું ક્લચર પગલું કોલોની ની શુદ્ધતા તપાસ માટે પસંદગીયુક્ત અગાર માધ્યમથી લેવામાં આવેલી બાયોકેમિકલ પરીક્ષણોની સમાંતર રીતે કરી શકાય છે.
- બાયોકેમિકલ અને સેરોલોજીકલ પુષ્ટિ માટે શુદ્ધ ક્લચર નો ઉપયોગ કરો.

બાયોકેમિકલ પરીક્ષણ

- પસંદ કરેલ કોલોનીમાંથી પ્રાપ્ત દરેક ક્લચર સાથે બાયોકેમિકલ પુષ્ટિ માધ્યમો ને ઇનોક્યુલેટ કરો.
- સાલ્મોનેલ્લા પ્રજાતિ ની પુષ્ટિ માટે, ઓછામાં ઓછા નીચેના પરીક્ષણો કરવા જોઈએ.

1. ટીએસઆઈ અગાર

- સ્લેંટ ને સ્ટ્રીક કરો અને બટ્ટ ને સ્ટેબ કરી ઇનોક્યુલેટ કરો
- **24 ± 3 ક માટે 37 ° સે.** તાપમાને ઇન્ક્યુબેશન.
- મીડિયામાં થતા ફેરફારોનું નીચે પ્રમાણે અર્થઘટન કરો:

એ. બટ

- પીળો: ગ્લુકોઝ પોઝિટિવ (ગ્લુકોઝ ફર્મેન્ટેશન)
- લાલ અથવા યથાવત: ગ્લુકોઝ નેગેટિવ (ગ્લુકોઝ ફર્મેન્ટેશન નથી)
- કાળો: હાઇડ્રોજન સલ્ફાઇડની રચના
- પરપોટા અથવા તિરાડો: ગ્લુકોઝમાંથી ગેસનું નિર્માણ

બી. સ્લેંટ સપાટી

- પીળો: લેક્ટોઝ અને/અથવા સુક્રોઝ પોઝિટિવ (લેક્ટોઝ અને/અથવા સુક્રોઝ ફર્મેન્ટેશન)
- લાલ અથવા યથાવત: લેક્ટોઝ અને સુક્રોઝ નેગેટિવ

- મોટાભાગ ના લાક્ષણિક સાલ્મોનેલા ક્લચર ગેસ રચના (પરપોટા) અને (લગભગ 90% કિસ્સાઓમાં) હાઈડ્રોજન સલ્ફાઇડ (અગારનું કાળાશરણ) ની રચનાવાળા આલ્કલાઇન (લાલ) સ્લેંટ અને એસિડ (પીળો) બટ્સ દર્શાવે છે.

2. યુરિયા અગાર

- અગાર સ્લેંટ સપાટીને સ્ટ્રીક કરો
- 24 કલાક સુધી 37 ° સે તાપમાને ઇન્ક્યુબેટ કરો.
- જો પ્રતિક્રિયા હકારાત્મક હોય, તો યુરિયા હાઈડ્રોલાઇઝ થાય છે, એમોનિયાને મુક્ત કરે છે.
- આ ફિનોલ- રેડનો રંગ ગુલાબ-ગુલાબી અને પછીથી પ્રમાણમાં ઘાટો ચેરી બદલાય છે.
- આ પ્રતિક્રિયા ઘણીવાર 2 થી 4 કલાક પછી સ્પષ્ટ થાય છે.
- લાક્ષણિક સાલ્મોનેલ્લા ક્લચર યુરિયાને હાઇડ્રોલાઇઝ કરતી નથી જેથી યુરિયા અગારનો રંગ યથાવત રહેશે.

3. એલ-લાઇસિન ડેકારબોક્સિલેશન માધ્યમ (એલડીસી)

- પ્રવાહી માધ્યમની સપાટીની નીચે જ ઇનોક્યુલેટ કરો
- 24±3 કલાક 37 ° સે તાપમાને ઇન્ક્યુબેટ કરો.
- ઇન્ક્યુબેશન પછી ટર્બીડીટી અને જાંબુડિયો રંગ હકારાત્મક પ્રતિક્રિયા દર્શાવે છે.
- પીળો રંગ નકારાત્મક પ્રતિક્રિયા સૂચવે છે.
- મોટાભાગ ના લાક્ષણિક સાલ્મોનેલ્લા ક્લચર એલડીસીમાં હકારાત્મક પ્રતિક્રિયા દર્શાવે છે.

વૈકલ્પિક પરીક્ષણો

1. β-ગેલેક્ટોસિડેઝ પરીક્ષણ
2. ઇન્ડોલ પરીક્ષણ

સેરોલોજીકલ પરીક્ષણ

- સાલ્મોનેલ્લા માટે લાક્ષણિક બાયોકેમિકલ પ્રતિક્રિયાઓ દર્શાવતી શુદ્ધ કોલોનીમાં પણ સાલ્મોનેલ્લા ઓ- અને એચ-એન્ટિજેન્સની હાજરી માટે પરીક્ષણ કરવામાં આવે છે (અને, એવા વિસ્તારોમાં જ્યાં સાલ્મોનેલ્લા ટાઇફી અન્નની સપ્લાયમાં અપેક્ષિત હોય છે, વીઆઇ એન્ટિજેન માટે પણ) પોલિવાલેન્ટ એન્ટિસેરાનો ઉપયોગ કરીને સ્લાઇડ એગ્લુટિનેશન દ્વારા .
- શુદ્ધ કોલોની બિન-પસંદગીના અગાર માધ્યમ પર ક્લચર કરવામાં આવે છે અને સ્વ:એગ્લુટિનેશન માટે પરીક્ષણ કરવામાં આવે છે.

ઑટોએગ્લુટિનેબલ સ્ટ્રેઇન્સ ને સાલ્મોનેલા એન્ટિજન માટે પરીક્ષણ નથી કરી શકાતી

ઑટોએગ્લુટિનેબલ સ્ટ્રેન્સનો નાબૂદી

- ક્લીન ગ્લાસ સ્લાઇડ પર સલાઈન સોલ્યુશનનો એક ડ્રોપ મૂકો
- એક લૂપનો ઉપયોગ કરીને, કોલોનીના ભાગને વિખેરી નાખવું, હોમોજિનિયસ અને ટર્બિડ સસ્પેન્શન મેળવવા માટે.
- સ્લાઇડને 5 થી 60 સે માટે નરમાશથી હલાવો.
- સસ્પેન્શનનું અવલોકન કરો, પ્રાધાન્ય શ્યામ પૃષ્ઠભૂમિની સામે.
- જો બેક્ટેરિયાએ સસ્પેન્શનમાં ગ્રાન્યુલ્સની રચના કરી હોય , તો આ સ્વ:એગ્લુટિનેશન સૂચવે છે અને સેરોલોજીકલ પુષ્ટિ જટિલ હશે.

ઓ-એન્ટિજેન્સ માટેની પરીક્ષા

- ઉપર ના ભાગ માં વર્ણવ્યા મુજબ સ્વ :એગ્લુટિનેટિંગ સ્ટ્રેઇન ને દૂર કરી નોન -ઓટો-એગ્લ્યુટિનીટીંગ શુદ્ધ કોલોની નો ઉપયોગ કરીને આગળ વધો.
- સલાઈન સોલ્યુશનની જગ્યાએ, પોલિવેલેન્ટ એન્ટી-ઓ સેરાનો એક ડ્રોપ વાપરો.
- જો એગ્લુટિનેશન થાય છે, તો આ સકારાત્મક પ્રતિક્રિયા માનવામાં આવે છે.

Vi એન્ટિજેન્સ માટે પરીક્ષણ (વૈકલ્પિક)

- ઉપર ના ભાગ માં વર્ણવ્યા મુજબ સ્વ :એગ્લુટિનેટિંગ સ્ટ્રેઇન ને દૂર કરી નોન -ઓટો-એગ્લ્યુટિનીટીંગ શુદ્ધ કોલોની નો ઉપયોગ કરીને આગળ વધો.
- સલાઈન સોલ્યુશનની જગ્યાએ, પોલિવેલેન્ટ એન્ટી-વી સીરાનો એક ડ્રોપ વાપરો.
- જો એગ્લુટિનેશન થાય છે, તો આ સકારાત્મક પ્રતિક્રિયા માનવામાં આવે છે.

એચ-એન્ટિજેન્સ માટે પરીક્ષણ

- ઉપર ના ભાગ માં વર્ણવ્યા મુજબ સ્વ :એગ્લુટિનેટિંગ સ્ટ્રેઇન ને દૂર કરી નોન -ઓટો-એગ્લ્યુટિનીટીંગ શુદ્ધ કોલોની નો ઉપયોગ કરીને આગળ વધો.
- સલાઈન સોલ્યુશનની જગ્યાએ, પોલિવેલેન્ટ એન્ટી-એચ સીરાનો એક ડ્રોપ વાપરો.
- જો એગ્લુટિનેશન થાય છે, તો આ સકારાત્મક પ્રતિક્રિયા માનવામાં આવે છે.

બાયોકેમિકલ અને સેરોલોજીકલ પ્રતિક્રિયાઓનું અર્થઘટન

બાયોકેમિકલ પ્રતિક્રિયાઓ	સ્વ:એગ્લુટિનેશન	સેરોલોજીકલ પ્રતિક્રિયાઓ	અર્થઘટન
લાક્ષણિક	ના	ઓ- અને એચ-	સાલ્મોનેલ્લા સ્ટ્રેઇન

		એન્ટિજેન્સ સકારાત્મક (અને વીઆઇ સકારાત્મક, જો પરીક્ષણ કરવામાં આવે તો)	માનવામાં આવશે
લાક્ષણિક	ના	ઓ-અને / અથવા એચ-એન્ટિજેન્સ નકારાત્મક	પ્રિઝમ્પ્ટિવ સાલ્મોનેલ્લા
લાક્ષણિક	હા	સ્વ:એગ્લુટિનેશન કારણે પરીક્ષણ કરાયું નથી	
કોઈ લાક્ષણિક પ્રતિક્રિયા નથી	-	-	સાલ્મોનેલ્લા માનવામાં આવતું નથી

સેરોટાઇપિંગ

• સ્ટ્રેન કે જે સાલ્મોનેલ્લા પ્રજાતિ તરીકે પુષ્ટિ થયેલ છે. આગળ સેરોવર સ્તર પર અલગ પાડી શકાય છે.

પરિણામોની અભિવ્યક્તિ

- પરિણામોના અર્થઘટન અનુસાર, સૂચવે છે કે સાલ્મોનેલ્લાને શોધી કાઢવામાં આવ્યો નથી અથવા X ગ્રામ અથવા X મિલી ઉત્પાદનના પરીક્ષણ ભાગમાં અથવા સપાટીના ક્ષેત્રમાં અથવા ઓબ્જેક્ટમાં શોધી કઢાયો છે.

સંદર્ભ

1. 1. વાલેસ એચ. એન્ડ્રયૂઝ, હુઆ વાંગ, એન્ડ્રુ જેકબસન અને થોમસ હેમ્મક. 2019. પ્રકરણ 5. સાલ્મોનેલા. બેક્ટેરિઓલોજિકલ એનાલિટીકલ મેન્યુઅલ (બીએએમ). યુએસએફડીએ (ફૂડ એન્ડ ડ્રગ એડમિનિસ્ટ્રેશન).
2. 2. ફૂડ ચેઇનનું માઇક્રોબાયોલોજી - સાલ્મોનેલાની શોધ, ગણતરી અને સેરોટાઇપિંગ માટે હોરિઝોન્ટલ પદ્ધતિ. આઇએસઓ 6579-1: 2017 (ઇ)
3. એઓએસી આંતરરાષ્ટ્રીય. 2000. વિશ્લેષણની સત્તાવાર પદ્ધતિઓ , 17 મી આવૃત્તિ. , પદ્ધતિઓ 967.25-967.28, 978.24, 989.12, 991.13, 994.04 અને 995.20. એઓએસી ઇન્ટરનેશનલ, ગેથર્સબર્ગ, એમડી.

****

સીફૂડમાંથી વિબ્રિઓ કોલેરાની અલગતા અને ઓળખ

અનુપમા ટી. કે

વી. કોલેરા, વિબ્રિઓ જાતિની ટાઈપ સ્પીસીઝ છે, જે કોલેરાના રોગચાળાના કારક એજન્ટ છે. કોલેરા એન્ટ રોટોક્સિન (સીટી) એ કોલેરાના રોગચાળાનું પ્રાથમિક રોગજનક પરિબળ છે. રોગચાળાના કોલેરાના કેસોમાંથી પ્રાપ્ત થયેલી વી. કોલેરાની સ્ટ્રેઇનમાં સામાન્ય સોમેટિક એન્ટિજેન હોય છે અને તેમાં સેરોગ્રુપ ઓ 1 શામેલ છે. 150 થી વધુ જાણીતા સોમેટિક એન્ટિજેનિક પ્રકારોને ઓળખવામાં આવ્યા છે. ઓ 1 ના એન્ટિસેરમના ઇનાબા અથવા ઓગાવા સેરોટાઇપ્સમાં જે સ્ટ્રેઇન્સ એગ્લ્યુટીનેબલ છે તે માનવીય પેથોજેન્સ તરીકે સારી રીતે દસ્તાવેજીત છે. તાજેતર સુધી, ફક્ત O1 સેરોગ્રુપ કોલેરા રોગચાળા સાથે સંકળાયેલ હતો. વી. કોલેરા સ્ટ્રેઇન્સ જે બાયોકેમિકલ લાક્ષણિકતાઓમાં ક્લિનિકલ સ્ટ્રે ઇન્સની સમાન અથવા નજીકથી મળતા આવે છે, પરંતુ એન્ટી-ઓ 1 અથવા ઓ 139 સીરામાં એગ્લુટિનેટ થવામાં નિષ્ફળ થાય છે, તેને હવે વી કોલેરા નોન-ઓ 1/ઓ 139 તરીકે ઓળખવામાં આવે છે. આ સેરોલોજિકલી વૈવિધ્યસભર સ્ટ્રેઇન્સ એસ્ચ્યુરિન વાતાવરણમાં વિપુલ પ્રમાણમાં છે. નોન-ઓ 1 / ઓ 139 સ્ટ્રેઇન્સથી કોલેરા જેવા ડાયેરીયલ રોગ થાય છે પરંતુ ભાગ્યે જ રોગચાળો ફાટી નીકળે છે. કેટલાક નોન-ઓ 1 / ઓ 139 જાતો પણ ગરમી માં સ્થિર ઝેર પેદા કરે છે અને વ્યક્તિઓમાં સેપ્ટિક ચેપ લાવી શકે છે. મોટાભાગના સ્ટ્રેઇન્સ કોલેરાના ઝેર પેદા કરતા નથી, જે આ અને રોગચાળાના કારક એજન્ટ વી. કોલેરા ઓ 1 / ઓ 139 વચ્ચેનો મુખ્ય તફાવત છે.

કોલેરાના O1 ના ચેપનો મુખ્ય સ્રોત કોલેરાના દર્દીઓનો મળ છે. આ રોગ દૂષિત પાણી અને ખોરાક દ્વારા ફેલાય છે. સીધો વ્યક્તિ-થી-વ્યક્તિ ફેલાવો સામાન્ય નથી. નોન- ઓ 1 / ઓ 139 સ્ટ્રેઇન્સને સામાન્ય રીતે એસ્ચ્યુરિન વોટર અને શેલફિશથી આઈસોલેટ કરવામાં આવે છે. અધ્યયનોએ શોધી કાઢ્યું છે કે વી. કોલેરા ઓ 1 એ કાંટાળાવાળા પાણી , ઉપદ્રવ્યો અને દરિયાકાંઠાના વિસ્તારોમાં મીઠાના બોગના ઓટોક થોનસ ફ્લોરાનો એક ઘટક છે , જે જાહેર આરોગ્ય માટે ગંભીર સંકટ છે.

મીડિયા અને રીએજન્ટ્સ

1. આલ્કલાઇન પેપ્ટોન વોટર (એપીડબલ્યુ)
2. આર્જિનિન ગ્લુકોઝ સ્લેંટ (એજીએસ)
3. ગતિશીલતા પરીક્ષણ માધ્યમ -1% એનએસીએલ
4. ઓક્સિડેઝ રીએજન્ટ (1% N, N, N, N'- ટેટ્રા મિથાઇલ–p-ફિનિલિન ડાઈએમાઇન.2HCl શુદ્ધ જળ માં)
5. ફોસ્ફેટ બફર સલાઈન (પીબીએસ)

6. ટ્રિપ્ટીકેસ સોયા અગાર (TSA)

7. નોર્મલ સલાઈન સોલ્યુશન - શુદ્ધ જળ માં 0.85%

8. સોડિયમ ડેસોકસીકોલેટ - જંતુરહિત શુદ્ધ જળ માં 0.5%

9. થાયોસલ્ફેટ બાઈલ સોલ્ટ સુક્રોઝ (ટીસીબીએસ) અગાર

10. ટી 1 એન 0, ટી 1 એન 1 અને ટી 1 એન 3 બ્રોથ્સ (ટ્રિપ્ટોન 1% અને ટી 1 એન 0 માટે એનએસીએલ 0 જી; ટ્રિપ્ટોન 1% અને ટી 1 એન 1 માટે ટ્રિપ્ટોન 1% અને ટી 1 એન 3 માટે એનએસીએલ 3%)

11. વી. કોલેરા પોલિવેલેન્ટ O1 અને O139 એન્ટિસેરમ

પદ્ધતિ

A. સમૃદ્ધિ અને પ્લેટિંગ

- સ્ટોમેકર બેગમાં 25 ગ્રામ નમૂના નું વજન લો.
- 225 મિલી એપીડબ્લ્યુ ઉમેરો અને સ્ટો મેકર બ્લેન્ડરમાં 2 મિનિટ વધુ ઝડપે મિશ્ર કરો અને 500 મિલી વાળા જંતુરહિત શંકુ ફલાસ્કમાં સ્થાનાંતરિત કરો.
- 6 થી 8 કલાક માટે 35 ± 2 ° સે પર ઇન્ક્યુબેટ કરો.
- ટીસીબીએસ અગારની સૂકી પ્લેટો તૈયાર કરો.
- એપીડબ્લ્યુ કલચર ની સપાટીના પેલિકલમાંથી સૂકા ટીસીબીએસ પ્લેટની સપાટી પર 3-મીમી લૂપફૂલને સ્થાનાંતરિત કરો અને એકલ કોલોનીઓ નું ઉત્પાદન થાય તે રીતે સ્ટ્રીક કરો.
- ટીસીબીએસ ને આખી રાત (18 થી 24 ક) ઇન્ક્યુબેટ કરો (18 થી 24 ક) 35 ± 2 ° સે.
- ટીસીબીએસ અગાર પર વી. કોલેરાની લાક્ષણિક કોલોની મોટી (2 થી 3 મીમી), સુંવાળી, પીળી અને સહેજ સમતલ અપારદર્શક કેન્દ્રો અને અર્ધપારદર્શક પેરિફેરી વાળી હોય છે.
- બાયોકેમિકલ ઓળખ માટે, ગીચ પ્લેટોની કોલોનીઓ ને શુદ્ધતા માટે બિન-પસંદગીયુક્ત અગાર (ટી1એન1, ટી1એન3, અથવા ટીએસએ -2% એનએસીએલ અગાર) પર સ્ટ્રીક કરવી જોઈએ. આખી રાત 35 ± 2 ° સે તાપમાને ઇન્ક્યુબેટ કરો અને એકલ કોલોનીનો ઉપયોગ કરીને ઓળખ આગળ વધારો.

બી. સ્ક્રીનિંગ અને પુષ્ટિ

- આર્જેનાઇન ગ્લુકોઝ સ્લેંટ (એજીએસ). પ્રત્યેક શંકાસ્પદ ટી1એન1 કલચરને એજીએસમાં સ્લેંટ પર સ્ટ્રીક કરી ને અને બટ્ટ માં સ્ટેબ કરી ને ઇનોક્યુલેટ કરો. આખી રાત 35 ± 2 ° સે તાપમાને ઇન્ક્યુબેટ કરો. વી. કોલેરામાં આલ્કલાઇન(જાંબુડિયા) સ્લેંટ અને એસિડિક

(પીળો) બટ્ટ હશે, કારણ કે આર્જિનિન હાઇડ્રોલાઇઝ નથી થતો. કોઈ ગેસ અથવા H_2S ઉત્પન્ન થતો નથી.

- મીઠા પ્રત્યે સહનશીલતા. ટી1એન1 કલચરમાંથી, દરેક ટી1એન0 અને ટી1એન3 બ્રોથ ટ્યુબને હળવાશથી ઇનોક્યુલેટ કરો. આખી રાત 35 ± 2 ° સે તાપમાને ઇન્ક્યુબેટ કરો. વી. કોલેરા એનએસીએલ વિના વધશે.
- સ્ટ્રીંગ પરીક્ષણ. શંકાસ્પદ વી. કોલેરા માટે સ્ટ્રીંગ પરીક્ષણ એ ઉપયોગી અનુમાનકારક પરીક્ષણ છે કારણ કે તમામ સ્ટ્રે ઇન્સ સકારાત્મક છે. ટી1એન1 કલચરમાંથી મોટી કોલોનીને જંતુરહિત 0.5% સોડિયમ ડેસો કસીકોલેટ ના નાના ડ્રોપમાં મિશ્ર કરો. ૬૦ સેકન્ડ ની અંદર કોષો નો નાશ થાય છે(ટર્બીડીટી ઓછી થવી) અને સ્લાઈડ પર થી લૂપથી ઉંચકતી વખતે DNA તાર ની જેમ દેખાય છે.
- ઓક્સિડેઝ પ્રતિક્રિયા. પ્લેટિનમ વાયરનો ઉપયોગ કરીને અથવા લાકડાની એપ્લિકેટર થી(નિક્રોમ વાયરનો ઉપયોગ ન કરવો જોઇએ) ટી1એન1 ની વૃદ્ધિ, અરજીકર્તા ઓક્સિડેઝ રીએજન્ટ (1% N, N, N, N'- ટેટ્રા મિથાઇલ–p-ફિનિલિન ડાઈએમાઇન. 2HCl) દ્વારા સંતૃપ્ત ફિલ્ટર પેપર પર સ્થાનાંતરિત કરો. 10 સેકન્ડની અંદર વિકસેલો ઘાટો જાંબુડિ યો રંગ હકારાત્મક પરીક્ષણ સૂચવે છે. વી. કોલેરા એ ઓક્સિડેઝ સકારાત્મક છે.
- સેરોલોજિક એગ્લુટિનેશન પરીક્ષણ. સોમેટિક અથવા ઓ એન્ટિજેન્સનો ઉપયોગ કરીને સ્ટ્રિંગ ટેસ્ટ પાસ કરનાર શંકાસ્પદ વી. કોલેરા કલચર નું સેરોટાઇપિંગ મહત્વપૂર્ણ રોગચાળાના પુરાવા આપે છે. સેરોગ્રુપ O1 ના બે મુખ્ય સેરોટાઇપ્સ , ઓગાવા અને ઇનાબા અને સેરોગ્રુપ O139, માનવ રોગકારક રૂપે ઓળખાય છે. O1 ના બંને સિરોટાઇપ્સ ક્લાસિકલ વી. કોલેરા અને El ટોર બાયોટાઇપ્સ , બંનેમાં જોવા મળે છે જયારે O139 સેરોગ્રુપ ફક્ત El ટોર બાયોટાઇપ જેવું જ છે.

એ. દરેક કલચર માટે, ગ્લાસ પેટ્રી ડીશની અંદર અથવા 2 × 3-ઇંચ ગ્લાસ સ્લાઇડ પર લગભગ 1 × 2 સે.મી.ના ત્રણ ભાગો (મીણ પેંસિલ સાથે) ને ચિહ્નિત કરો અને નીચલા ભાગમાં 0.85% સલાઈન સોલ્યુશનનો એક ડ્રોપ ઉમેરો. એક જંતુરહિત સ્થાનાંતરણ લૂપ અથવા સોય સાથે, એક વિભાગ માટે સલાઈન સોલ્યુશનમાં ટી 1 એન1 કલચર ને મિશ્ર કરો , અને બીજા વિભાગ માટે પુનરાવર્તન કરો. એગ્લુટિનેશન માટે તપાસો.

બિ. પોલિવેલેન્ટ વી. કોલેરા O1 એન્ટિસેરમનો એક ડ્રોપ કલચર ના એક વિભાગમાં ઉમેરો અને જંતુરહિત લૂપ અથવા સોય સાથે મિશ્ર કરો. એક અલગ વિભાગમાં એન્ટી O139 નો એક ડ્રોપ ઉમેરો. (ત્રીજો વિભાગ)

સી. એક મિનિટ માટે આગળ અને પાછળ મિશ્ર કરો અને કાળી પૃષ્ઠભૂમિ સામે અવલોકન કરો. સકારાત્મક પ્રતિક્રિયા સ્પષ્ટ પૃષ્ઠભૂમિમાં ઝડપી , મજબૂત એગ્લુટિનેશન દ્વારા સૂચવવામાં આવે છે.

ડી. જો સકારાત્મક છે , તો ઓગાવા અને ઇનાબા એન્ટિસેરાથી અલગથી પરીક્ષણ કરો. હિકોજીમા સેરોટાઇપ બંને એન્ટિસેરા સાથે પ્રતિક્રિયા આપે છે.

સી બાયોકેમિકલ પરીક્ષણો

નીચે આપેલ કોષ્ટકમાં વી. કોલેરાની સ્ટ્રેઇન્સને ઓળખવા માટે જરૂરી ઓછામાં ઓછા ગુણધર્મો ની રજૂઆત છે. વી. કોલેરાની NaCl નાખ્યા વિના ના ૧% ટ્રિપ્ટોન માં વૃદ્ધિ થવાની ક્ષમતા તેને અન્ય સુક્રોઝ-પોઝિટિવ વિબ્રીયોથી અલગ પાડે છે.

કોષ્ટક: વી. કોલેરાની પુષ્ટિ માટે બાયોકેમિકલ પરીક્ષણો

	બાયોકેમિકલ પરીક્ષણો		*વી. કોલેરા*
1.	ટીસીબીએસ અગાર		સુંવાળી, પીળી , 2-3 મીમી વ્યાસની કોલોની; અર્ધપારદર્શક પરિઘ અને અપારદર્શક કેન્દ્ર, સહેજ સમતલ
2.	એજીએસ		K/A
3.	ઓક્સિડેઝ		+
4.	આર્જિનિન ડીહાઇડ્રોલેઝ		-
5.	ઓર્નિથિન ડીકારબોક્સીલેઝ		+
6.	લાઇસિન ડીકારબોક્સીલેઝ		+
7.	**વૃદ્ધિ (w/v) માં:**	0% NaCl	-
8.		3% NaCl	+
9.	**વૃદ્ધિ 42 ° સે પર**		+
10.	**થી એસિડ:**	સુક્રોઝ	+
11.		ડી-સેલોબાયોઝ	-
12.		લેક્ટોઝ	-
13.		અરાબીનોઝ	-

14.		ડી-મેન્નોઝ	+
15.		ડી-મેન્નીટોલ	+
16.		ઓએનપીજી	+
17.		વોગસ-પ્રોસ્કૌર	વી

સંક્ષેપ: ટીસીબીએસ, થાયોસલ્ફેટ બાઈલ સોલ્ટ સુક્રોઝ; એજીએસ, આર્જિનિન-ગ્લુકોઝ સ્લેંટ; વાય = પીળો, એસ = સંવેદનશીલ, વી = સ્ટ્રેઇન્સ વચ્ચે પરિવર્તનશીલ, K/A = સ્લેંટ આલ્કલાઇન / બટ્ટ સહેજ એસિડિક

સંદર્ભ

કેસનર**,** સી.એ અને ડીપોલા **,** જુનિયર એ. **(2004)** બેક્ટેરિઓલોજિકલ એનાલિટીકલ મેન્યુઅલ **,** પ્રકરણ **9,** યુએસએફડીએ.

****

માછલી અને મત્સ્ય ઉત્પાદનોમાંથી વી.પેરાહિમોલાયટિક્સ ની અલગતા અને ઓળખ

ટોમ્સ સી. જોસેફ

વિબ્રિઓ પેરાહિમોલાયટિક્સ એક વક્ર , લાકડી આકારનું, ગ્રામ-નેગેટિવ બેક્ટેરિયમ છે જે કાકડા અને ખારા પાણીના વાતાવરણમાં જોવા મળે છે. જ્યારે બેક્ટેરિયાને ઇન્જેસ્ટ કરવામાં આવે છે, ત્યારે તે મનુષ્યમાં ગેસ્ટ્રોઇંટેસ્ટીનલ બિમારીનું કારણ બને છે. વી. પેરાહિમોલાયટિક્સ એ ઓક્સિડેઝ સકારાત્મક , ફેકલ્ટેટિવલી એરોબિક છે , અને બીજાણુની રચના કરતું નથી. આ બેક્ટેરિયા વિબ્રિઓ જાતિના અન્ય સભ્યોની જેમ એક ધ્રુવીય ફ્લેજેલમ સાથે ગતિશીલ છે. વી. પેરાહિમોલાયટિક્સના મોટાભાગના ક્લિનિકલ આઇસોલેટ્સને પર્યાવરણીય *સ્ટ્રેઇન્સથી* થર્મોસ્ટેબલ ડાયરેક્ટ હેમોલિસિન (ટીડીએચ), (કાનાગાવા ઘટના) ઉત્પન્ન કરવાની ક્ષમતા દ્વારા અલગ કરી શકાય છે.

અલગ કરવાની પદ્ધતિઓ

વિબ્રીયો પ્રજાતિઓ ફેકલ્ટેટિવલી એનારોબિક હોય છે અને ક્ષારયુક્ત સ્થિતિમાં શ્રેષ્ઠ વૃદ્ધિ પામે છે. તેઓ પિત્ત ક્ષારની પ્રમાણમાં ઉચ્ચ સ્તરની હાજરીમાં વૃદ્ધિ પામે છે. આલ્કલાઇન પીએચવાળા માધ્યમોના ઉપયોગ દ્વારા ખોરાકમાંથી વિબ્રિઓ પ્રજાતિઓને અલગ પાડવાની સુવિધા આપવામાં આવે છે. આલ્કલાઇન પેપ્ટોન વોટર (એપીડબ્લ્યુ) નો ઉપયોગ સામાન્ય રીતે વિબ્રિઓને અલગ કરવા માટેના સમૃધ્ધ મીડિયા તરીકે થાય છે. વી. પેરાહિમોલાયટિક્સની અલગતા અને બાયોકેમિકલ પ્રતિક્રિયાઓ માટે વપરાતા માધ્યમોમાં 2% અથવા 3% NaCl હોવું જોઈએ. ટીસીબીએસ અગાર એ એક માધ્યમ છે , જેનો ઉપયોગ સામાન્ય રીતે વી. કોલેરા , વી. પેરાહિમોલાયટિક્સ અને સીફૂડથી વિબ્રીયોની અન્ય જાતોની અલગતા માટે થાય છે. આ માધ્યમ વિબ્રીયોની મોટાભાગની જાતિઓના સારા વિકાસને ટેકો આપે છે જ્યારે મોટાભાગના નોન-વિબ્રીયોને અટકાવે છે.

સાધનો અને સામગ્રી

1. બાયોસેફ્ટી કેબિનેટ / લેમિનાર ફ્લો
2. પેટ્રિડિશ
3. 1 મિલી અને 10 મિલી ક્ષમતાના માઇક્રોપિપેટ્સ અને સમાન ક્ષમતાવાળા જંતુરહિત પિપેટ ટીપ્સ અથવા ગ્લાસ પિપેટ્સ
4. મોર્ટાર અને પેસ્ટલ અથવા સ્ટોમેકર બ્લેન્ડર અને બેગ
5. ઇન્ક્યુબેટર 35 ± 1° સે પર સેટ

6. જંતુરહિત ફોર્સેપ્સ, કાતર

7. ઇલેક્ટ્રોનિક વજનકાંટો (0.1 ગ્રામની સંવેદનશીલતા)

મીડિયા અને રીએજન્ટ્સ

1. આલ્કલાઇન પેપ્ટોન વોટર (એપીડબલ્યુ) 3% NaCl સાથે

2. ઓક્સિડેઝ રીએજન્ટ (1% N, N, N, N'- ટેટ્રા મિથાઇલ–p-ફિનિલિન ડાઈએમાઇન.2HCl શુદ્ધ જળ માં)

3. ફોસ્ફેટ બફર સલાઈન (પીબીએસ)

4. થાયોસલ્ફેટ બાઈલ સોલ્ટ સુક્રોઝ (ટીસીબીએસ) અગાર

5. T1N1 અને T1N3 અગાર (1% ટ્રિપ્ટોન અને ક્યાં 1% અથવા 3% NaCl)

6. T1N0, T1N3, T1N6, T1N8, T1N10 બ્રોથ

7. યુએરિયા બ્રોથ અથવા ક્રિસ્ટેનસનનો યુરિયા અગાર (ઉમેરવામાં આવેલા 2% NaCl) સાથે

એ. સીફૂડ નમૂનાઓ: સંવર્ધન, અલગતા અને ગણતરી.

1. બ્લેન્ડર અથવા મોર્ટાર અને પેસ્ટલમાં સીફૂડના નમૂનાના 50 ગ્રામ વજન કરો.. સપાટીની પેશીઓ, ગિલ્સ અને માછલીના આંતરડા મેળવી શકાય છે. શેલફિશ નમૂનાઓ માટે માંસ અને લિકર શામેલ હોઈ શકે છે. સામાન્ય રીતે 12 પ્રાણીઓ ભેળવી શકાય છે . બ્લેન્ડર અથવા મોર્ટાર અને પેસ્ટલમાં 90 સેકંડ માટે તીવ્ર ગતિથી મિશ્ર કરો. પચાસ ગ્રામ નમૂનાનો ઉપયોગ વિશ્લેષણ માટે થાય છે. ઝીંગા જેવા ક્રસ્ટેસિયન માટે, શક્ય હોય તો આખા પ્રાણીનો ઉપયોગ કરો ; જો તે ખૂબ મોટું છે, તો ગિલ અને આંતરડા સહિતના મધ્ય ભાગનો ઉપયોગ કરો.
2. એક જંતુરહિત બ્લેન્ડર અથવા સ્ટો મેકર બ્લેન્ડરમાં 3% NaCl સાથે આલ્કલાઇન પેપ્ટોન વોટરના 225 મિલી સાથે નમૂનાના 25 ગ્રામને વંધ્યીકૃત કરી 500 મિલી ફ્લાસ્કમાં સ્થાનાંતરિત કરો. અને 35 ± 2 ° સે તાપમાનમાં આખી રાત ઇન્ક્યુબેટ કરો.
3. વૃદ્ધિ દર્શાવતી ત્રણ સૌથી વધુ ડાઇલ્યૂશન ની એ.પી.ડબ્લ્યુ ટ્યુબની ટોચની 1 સે.મી.માંથી 3-મીમી લૂપફૂલ ટી.સી.બી.એસ. અગાર પર સ્ટ્રીક કરો.
4. આખી રાત 35 ± 2 ° સે તાપમાને ટીસીબીએસ પ્લેટો ઇન્ક્યુબેટ કરો.
   ટી.સી.બી.એસ. અગાર પર વી. પેરાહિમોલાયટિક્સ 2 થી 3 મીમી વ્યાસ ની ગોળાકાર, અપારદર્શક, લીલી અથવા વાદળી કોલોની તરીકે દેખાય છે. દખલ કરતી, સ્પર્ધાત્મક વી. એલ્જિનોલિટીકસ ની કોલોનીઓ, મોટી, અપારદર્શક અને પીળી હોય છે.

બી. સ્ક્રીનિંગ અને પુષ્ટિ

આઇસોલેટ્સની બાયોકેમિકલ ઓળખ જ્યાં સુધી અન્યથા ઉલ્લેખિત ન હોય ત્યાં સુધી, આ વિભાગના બધા માધ્યમો માં 2% અથવા 3% NaCl નો સમાવેશ કરવો. API 20E ડાયગ્નોસ્ટિક સ્ટ્રીપનો અહીં વૈકલ્પિક રીતે ઉપયોગ કરી શકાય છે. API 20E માટે 2% NaCl માં શંકાસ્પદ કલચર નું સેલ સસ્પેન્શન તૈયાર કરો.

3% મીઠા (TSI + N3) સાથે ટ્રીપલ સુગર આયર્ન અગાર

સ્લેંટને સ્ટ્રેક કરો , બટ્ટ ને સ્ટેબ કરો અને રાતભર 35±2° સે. ઇન્ક્યુબેટ કરો. વી. પેરાહિમોલાયટિક્સ આલ્કલાઇન (ગુલાબી) સ્લેંટ અને એસિડ (પીળો) બટ્ટ ઉત્પન્ન કરે છે, પરંતુ H_2S ઉત્પાદન નથી કરતુ.

વી.પેરાહિમોલાયટિક્સ ના શંકાસ્પદ કલચર નું, TSI + N3 અને T1N0 અને T1N3 નો ઉપયોગ કરીને સ્ક્રીનીંગ કરો. 18-24 ક માટે 35 ± 2 ° સે તાપમાને ઇન્ક્યુબેટ કરો.

એ.આર્જિનિન ગ્લુકોઝ સ્લેંટ (એજીએસ) માં સોય સાથે ટીસીબીએસ અગારથી બે કે તેથી વધુ શંકાસ્પદ કોલોનીઓ સ્થાનાંતરિત કરો. સ્લેંટને સ્ટ્રેક કરો , બટ્ટ ને સ્ટેબ કરો અને રાતભર 35 ± 2 ° સે. ઇન્ક્યુબેટ કરો. વી. પેરાહિમોલાયટિક્સ આલ્કલાઇન (જાંબુડિયા) સ્લેંટ અને એસિડ (પીળો) બટ્ટ (આર્જેનાઇન ડાયહાઇડ્રોલેઝ નેગેટિવ) ઉત્પન્ન કરે છે, પરંતુ એજીએસમાં ગેસ અથવા H_2S નથી.

બિ. ટીએસબી અને ટીએસએ સ્લેંટ (2% NaCl સાથે પૂરક) માટે, બંને માધ્યમોને ઇનોક્યુલેટ કરો અને આખી રાત 35 ± 2 ° સે ઇન્ક્યુબેટ કરો. આ કલચર અન્ય પરીક્ષણો માટે ઇનોક્યુલા તેમજ ગ્રામ સ્ટેન અને માઇક્રોસ્કોપિક પરીક્ષા માટે સામગ્રી પ્રદાન કરે છે. વી. પેરાહિમોલાયટિક્સ એ ઓક્સિડેઝ સકારાત્મક, ગ્રામ-નેગેટિવ, પ્લીઓમોર્ફિક સજીવ છે જે ધ્રુવીય ફ્લેજેલા સાથે વક્ર અથવા સીધી સળિયા જેવો આકાર દર્શાવે છે.

સિ. ગતિશીલતા પરીક્ષણ માધ્યમની એક ટ્યૂબને આશરે 5 સે.મી.ની ઊંડાઈથી સીધી લીટીમાં સ્ટેબ કરી ઇનોક્યુલેટ કરો. 35 ± 2 ° સે. પર આખી રાત ઇન્ક્યુબેટ કરો સ્ટેબની લાઇનમાંથી એક પરિપત્ર માં વૃદ્ધિ, સકારાત્મક પરીક્ષણની રચના કરે છે. વી. પેરાહિમોલાયટિક્સ ગતિશીલ છે.

ડી. વી. પેરાહિમોલાયટિક્સ ફક્ત T1N3 માં વિકસશે, પરંતુ T1N0 માં નહીં. ફક્ત મીઠાની જરૂરિયાત વાળા ક્લચરનું વધુ પરીક્ષણ કરવાની જરૂર છે.

માત્ર ગતિશીલ, ગ્રામ-નેગેટિવ સળિયા આકાર ના કે જે એજીએસ પર એસિડ બટ અને આલ્કલાઇન સ્લેંટ ઉત્પન્ન કરે છે , H_2S અથવા ગેસ નથી બનાવતા , અને મીઠાની આવશ્યકતા હોય તેને આગળની તપાસની જરૂર પડે છે.

ઇ. વી. પેરાહિમોલાયટિક્સની ઓળખ લાક્ષણિકતાઓ કોષ્ટકમાં પ્રસ્તુત છે. બાયોકેમિકલી, વી. પેરાહિમોલાયટિક્સ અને વી. વલ્નિફિકસ સમાન લાગે છે, પરંતુ ઓએનપીજી , મીઠું-સહિષ્ણુતા, સેલોબાયોઝ અને લેક્ટોઝ પ્રતિક્રિયાઓ (કોષ્ટક) ના તફાવત દ્વારા અલગ કરી શકાય છે. પસંદ કરેલા બાયોકેમિકલ લક્ષણોનો ઉપયોગ કરીને , વી. પેરાહિમોલાયટિક્સ અને વી. વલ્નિફિકસને મોટાભાગના દખલ કરતા દરિયાઇ વિબ્રીઓ અને અન્ય દરિયાઇ સુક્ષ્મસજીવોથી અલગ કરી શકાય છે.

યુરિયાની હાજરી માટે બધા વી. પેરાહિમોલાયટિક્સ આઇસોલેટ્સનું પરીક્ષણ કરવું જોઈએ , કાં તો 2% NaCl સાથે પૂરક યુરિયા બ્રોથનો ઉપયોગ કરીને અથવા ક્રિસ્ટેનસેનના યુરિયા અગારનો ઉપયોગ કરીને અથવા API 20E નો ઉપયોગ કરીને. યૂરીએઝ ઉત્પાદન *tdh* અને / અથવા *trh* જીન્સની હાજરી સાથે સંબંધિત છે. સંભવિત પેથોજેનિક સ્ટ્રે ઇન્સ માટે યૂરીએઝની પ્રતિક્રિયા એ એક મૂલ્યવાન સ્ક્રીનીંગ પરીક્ષણ છે.

યુરિયા બ્રોથ - 3% NaClની ક્લચરના ભારે ઇનોક્યુલમ સાથે ઇનોક્યુલેટ કરો અથવા ક્રિસ્ટેનસેન-યુરિયા-એનએસીએલ અગાર પ્લેટ અથવા સ્લેંટની સપાટી પરની ક્લચર ને સ્પોટ કરો. $35 \pm 2\,°$ સે 18-24 કલાક ઇન્ક્યુબેટ કરો

યૂરીએઝનું ઉત્પાદન માધ્યમના ગુલાબી (આલ્કલાઇન) રંગ દ્વારા નક્કી થાય છે.

નકારાત્મક ક્લચર ને દુર્લભ, ધીમું યૂરીએઝ ઉત્પન્ન કરનારા સ્ટ્રેઇન્સ માટે વધારાના 24 કલાક ઇન્ક્યુબેટ કરવું જોઈએ.

વિબ્રિઓ પેરાહિમોલાયટિક્સની બાયોકેમિકલ ઓળખ		
	પરીક્ષણ / પ્રતિક્રિયા	***વિબ્રિઓ પેરાહેમોલિક્ટસ***
1.	ટીસીબીએસ અગાર	લીલો / વાદળી લીલો / લીલો વાદળી કેન્દ્રવાળી 3-5 મીમી ની કોલોની
2.	ટીએસઆઈએ અને કેઆઇએ	આલ્કલાઇન (લાલ) સ્લેંટ અને એસિડ (પીળો) બટ. કોઈ H_2S નહિ

3.	એજીએસ		આલ્કલાઇન (જામ્બલી) સ્લેંટ અને એસિડ (પીળો) બટ્ટ. H_2S નહિ
4.	ગ્રામ સ્ટેન અને ગતિશીલતા		ગ્રામ નેગેટિવ ટૂંકા અથવા વળાંક સળિયા આકાર ના, ગતિશીલ
5.	કેટેલેઝ		+
6.	ઓક્સિડેઝ		+
7.	આર્જિનિન ડીહાઇડ્રોલેઝ		–
8.	ઓર્નિથિન ડીકારબોક્સીલેઝ		+
9.	લાઇસિન ડીકારબોક્સીલેઝ		+
10.	(w/v) માં વૃદ્ધિ:	0% એનએસીએલ	–
11.		3% એનએસીએલ	+
12.		6% એનએસીએલ	+
13.		8% એનએસીએલ	+
14.		10% એનએસીએલ	–
15.	વૃદ્ધિ 42 ^{o}સે		+
16.	થી એસિડ:	સુક્રોઝ	–
17.		ડી-સેલોબાયોઝ	V
18.		લેક્ટોઝ	–
19.		અરાબીનોઝ	+
20.		ડી- મેન્નોઝ	+
21.		ડી- મેન્નીટોલ	+

22.		ઓએનપીજી	–
23.		વોગસ-પ્રોસ્કૌર	–
24.	માટે સંવેદનશીલતા:	10 µg O/ 129	R
25.		150 µg O / 129	S
26.		જિલેટીનેઝ	+
27.		યૂરીએઝ	વી

સંદર્ભ

બેક્ટેરિઓલોજિકલ વિશ્લેષણાત્મક મેન્યુઅલ, 8 મી આવૃત્તિ, સુધારો એ, 1998.

****

સીફૂડમાંથી લીસ્ટેરીયા મોનોસાયટોજન્સને અલગ કરવા અને ઓળખ

રેણુકા. વી

લીસ્ટેરીયા મોનોસાયટોજન્સ એ એક ગ્રામ- પોઝિટિવ, કેટેલેઝ પોઝિટિવ, ગતિશીલ, ફેકલ્ટેટિવ એનારોબિક બેક્ટેરિયા છે , જેમાં સાયકટ્રોફિક લાક્ષણિકતાઓ છે. તે લિસ્ટરિઓસિસનું કારક એજન્ટ છે , જેમાં હોસ્પિટલમાં દાખલ થવા અને ઉચ્ચ જીવલેણ દર સાથેનો ગંભીર રોગ. તેમાં સીફૂડ મથકોની સીફૂડ સંપર્ક સપાટીઓ પર બાયોફિલ્મ બનાવવાની ક્ષમતા છે. લીસ્ટેરીયા જાતિ નીચે મુજબ 6 પ્રજાતિઓ ધરાવે છે

- લીસ્ટેરીયા મોનોસાયટોજેન્સ
- લીસ્ટેરીયા *ઈવાનોવિ*
- લીસ્ટેરીયા ઇનોકુઆ
- લીસ્ટેરીયા *વેલશી* મેરી
- લીસ્ટેરીયા સીલિગેરી
- લીસ્ટેરીયા ગ્રેઇ

નમૂના સારવાર:

તાજા સીફૂડ નમૂનાઓ 4° સે પર સંગ્રહિત કરવા જોઈએ. જો કે, વિશ્લેષણ થાય ત્યાં સુધી સ્થિર નમૂનાઓ પીગળી ન જવા જોઈએ.

પૂર્વ સંવર્ધન અને સંવર્ધન

25 ગ્રામ સીફૂડ નમુના ને બી.એલ.ઇ.બી. બ્રોથ (બફર્ડ લીસ્ટેરીયા એનરિચમેન્ટ બ્રોથ) ના 225 એમએલમાં સ્ટોમેકર અથવા મિશ્રિત કરવામાં આવે છે અને 4 કલાક માટે 30° સે પર ઇન્ક્યુબેટ કરવામાં આવે છે. જીવાણુંરહીત રીતે, 10 મિલિગ્રામ/લિ એકરીફ્લેવિન, 40 મિલિગ્રામ/લિ સાયક્લોહેક્સિમાઇડ અને 50 મિલિગ્રામ/લિ સોડિયમ નાલિડિક્સિક એસિડ પસંદગીયુક્ત એજન્ટ તરીકે બીએલઇબીમાં ઉમેરવામાં આવે છે અને 48 કલાક ના કુલ સમય માટે ઇન્ક્યુબેટ કરવામાં આવે છે.

અલગ પ્રક્રિયા

બી.એલ.ઇ.બી. સંવર્ધનને 2 જુદા જુદા આધાર અગાર દ્વારા આકાર આપવામાં આવે છે

- એસ્કુલિન આધારિત લીસ્ટેરીયા સિલેક્ટીવ અગાર
- ક્રોમોજેનિક આધારિત અગાર

એસ્કુલિન આધારિત પસંદગીયુક્ત અગાર

1. ઓક્સફર્ડ અગાર (ઓએક્સએ) / મોડિફાઇડ ઓક્સફર્ડ અગાર (MOX)

બી.એલ.ઇ.બી. બ્રોથ નમૂનાઓ ને ઓએક્સએ અગાર / એમઓએક્સ અગાર પર સ્ટ્રીક કરો અને 24 કલાક માટે 35° સે પર ઇન્ક્યુબેટ કરવામાં આવે છે. કોલોનીઓ આશરે 1 મીમી વ્યાસની ગ્રે થી કાળી , કાળા પ્રભામંડળથી ઘેરાયેલી હોય છે. ઇન્ક્યુબેશનના 48 કલાક પછી , કોલોની લગભગ 2-3 મીમી વ્યાસની, કાળા પ્રભામંડળ અને ડૂબેલા કેન્દ્રની સાથે કાળી હોય છે.

2. **એસ્ક્યુલિન અને** Fe^{3+} **સાથે એલ.પી.એમ. (**LPM)

લીસ્ટેરીયા પ્રજાતિની કોલોનીનો દેખાવ ઓક્સફોર્ડ અગાર જેવો સમાન છે સિવાય કે ઇન્ક્યુબેશનનું તાપમાન **24** કલાક માટે **30°** સે છે.

3. **PALCAM અગાર**

ઇન્ક્યુબેશનની સ્થિતિ અને લીસ્ટેરીયા પ્રજાતિની કોલોનીનો દેખાવ ઓક્સફોર્ડ અગાર જેવો સમાન છે સિવાય કે પૃષ્ઠભૂમિ પ્લેટનો રંગ લાલ છે.

ક્રોમોજેનિક આધારિત અગાર્સ

1. આર એન્ડ એફ લીસ્ટેરીયા મોનોસાયટોજેન્સ ક્રોમોજેનિક પ્લેટિંગ મીડિયમ (આર એન્ડ એફ એલએમસીપીએમ)

35° સે પર 24 કલાક પછી, એલ. મોનોસાયટોજેન્સ અને એલ. ઇવાનોવી એક 1-3 મીમી વ્યાસની, સુંવાળી, બહિર્મુખ, વાદળી/લીલી કોલોની અને નાના વાદળી/લીલા પ્રભામંડળનું ઉત્પાદન કરે છે. અન્ય તમામ લીસ્ટેરીયા જાતિઓ 1-2 મીમીની, સુંવાળી, બહિર્મુખ સફેદ કોલોની નું ઉત્પાદન કરે છે.

2. રેપિડ એલ. મોનો અગાર

37° સે પર 24 કલાક ઇન્ક્યુબેશન પછી , એલ. મોનોસાયટોજેન્સ અને એલ. ઇવાનોવી એક 1-3 મીમી વ્યાસની, સુંવાળી, બહિર્મુખ, વાદળી/લીલી કોલોની નું ઉત્પાદન કરે છે. લાક્ષણિક કોલોની રેપિડ એલ મોનો અગારની લાલ પૃષ્ઠભૂમિમાં ઘેરા વાદળી/લીલી દેખાય છે.

3. ઓટ્ટાવિયાની(Ottaviani) અને એગોસ્ટી(Agosti) અનુસાર અગાર લીસ્ટેરીયા (ALOA) અથવા ઓકસોઇડ ક્રોમોજેનિક લીસ્ટેરીયા અગાર (OCLA)

37 ° સે પર પ્લેટો ઇન્ક્યુબેટ કરવામાં આવે છે. 24 કલાક પછી બધી લીસ્ટેરીયા જાતિઓ 1-3 મીમી વ્યાસની વાદળી/લીલી કોલોની તરીકે દેખાય છે. આ ઉપરાંત , એલ.

મોનોસાયટોજેન્સ અને એલ. ઇવાનોવિની કોલોની ની આસપાસ એક અપારદર્શક સફેદ પ્રભામંડળ દેખાય છે

4. ક્રોમઅગાર લીસ્ટેરીયા

ઇન્ક્યુબેશનની સ્થિતિ અને લીસ્ટેરીયાની કોલોનીનો દેખાવ ALOA જેવો સમાન છે સિવાય કે પૃષ્ઠભૂમિ પ્લેટનો રંગ આછો વાદળી છે.

આરએન્ડએફ એલએમસીપીએમ અને રેપિડના એલ.મોનોસાયટોજેન્સ અગારમાં , ક્રોમોજન અગાર આધારિત પદ્ધતિઓ , એલ. મોનોસાયટોજેન્સ અને એલ. ઇવાનોવિ , ફોસ્ફેટીડાઈલઈનોસીટોલ-વિશિષ્ટ ફોસ્ફોલાઈપેસ સી (PI-PLC) નીપ્રવૃત્તિને લીધે વાદળી-લીલો દેખાશે. બાકીની તમામ લીસ્ટેરીયા પ્રજાતિઓ વાદળી-લીલો રંગ વિકસાવશે નહીં અને દેખાવમાં સફેદ રહેશે.

ALOA અને ક્રોમઅગાર ના કિસ્સામાં, તમામ જાતિઓ વાદળી- **લીલી** કોલોની તરીકે દેખાશે. એલ. મોનોસાયટોજેન્સ અને એલ. ઇવાનોવી, વાદળી-**લીલી** કોલોનીની આસપાસના વધારાના અપારદર્શક સફેદ પ્રભામંડળ દ્વારા નક્કી કરવામાં આવે છે.

ઓળખ પ્રક્રિયા

1. દરેક એસ્ક્યુલિન આધારિત અગારમાંથી 5 લાક્ષણિક કોલોની પસંદ કરીને 0.6% યીસ્ટ એક્સટ્રેક્ટ (TSAYE) વાળા ટ્રિપ્ટીકેસ સોયા અગાર પર સ્ટ્રીક કરવામાં આવે છે અને 24-48 કલાક માટે 30 ° સે પર પ્લેટોને ઇન્ક્યુબેટ કરવામાં આવે છે. લાક્ષણિક કોલોની 1-3 મીમી વ્યાસની સુંવાળી બહિર્મુખ સફેદ કોલોની છે.
2. એસ્ક્યુલિન આધારિત અગાર અથવા ક્રોમોજેનિક આધારીત અગારથી અલગ કોલોનીને 5% શિપ બ્લડ અગાર પ્લેટ પર સ્ટેબ કરવામાં આવે છે અને 24-48 કલાક માટે 35 ° સે. પર પ્લેટોને ઇન્ક્યુબેટ કરવામાં આવે છે.

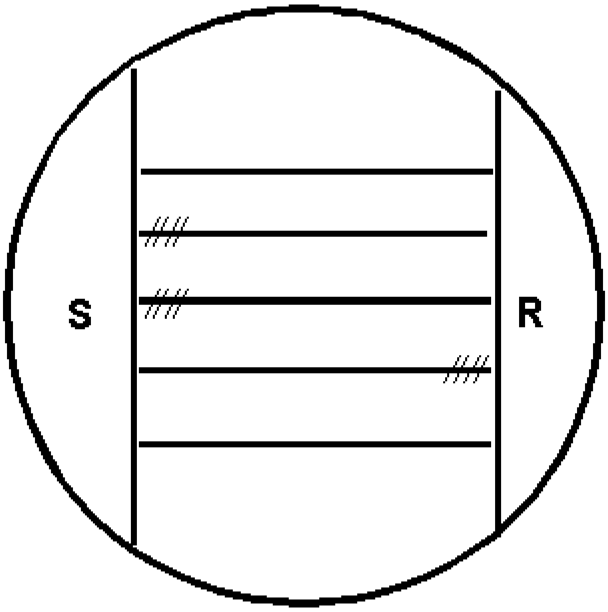
હિમોલીસીસ પરીક્ષણ

એલ. મોનોસાયટોજેન્સ બીટા હેમોલિટીક છે. આઇસોલેટેડ કોલોનીને 5% શિપ બ્લડ અગારની સપાટી પર સ્ટેબ કરો. પ્લેટ તળિયે 20-25 જગ્યાઓનો ગ્રીડ દોરો. ગ્રીડ જગ્યા દીઠ એક કલચર સ્ટેબ કરો. સ્ટેબિંગ અગારના તળિયાની નજીક, અગાર લેયરની તળિયે સ્પર્શ કર્યા વિના અને અગારને ફ્રેક્ચર કર્યા વગર કરવું જોઈએ. 35° સે પર 24-48 **કલાક** માટે પ્લેટોને ઇન્ક્યુબેટ કરો. એલ. મોનોસાયટોજેન્સ અને એલ. સેલિગેરી સ્ટેબની આજુબાજુ સહેજ સાફ ઝોન બનાવે છે. એલ. ઇનોકુઆ હેમોલિસિસનો કોઈ ઝોન બતાવતો નથી , જ્યારે એલ. ઇવાનોવિ એ

સ્ટેબના ભાગે એક સ્પષ્ટ વ્યાખ્યાયિત ઝોન ઉત્પન્ન કરે છે. જો TSAYE પ્લેટ પર મિશ્ર કલ્ચર જોવા મળ્યું હોય, તો એક અલગ કોલોની સાથે હિમોલિસીસ પરીક્ષણનું પુનરાવર્તન કરો.

ક્રિસ્ટી-એટકિન્સ-મંચ-પીટરસન (CAMP) પરીક્ષણ

CAMP પરીક્ષણ 5% શિપ બ્લડ અગારનો ઉપયોગ કરીને કરવામાં આવે છે. સ્ટેફાયલોકોકસ **ઓરિયસ** (એફડીએ સ્ટ્રેન એટીસીસી 49444 અથવા એટીસીસી 25923) અને ર્હોડોકોકસ ઇક્વિ (એટીસીસી 6939) ની સ્ટ્રેઇન્સ નું સ્ટ્રીકિંગ શિપ બ્લડ અગાર પ્લેટ પર ઊભી લીટી માં થાય છે. લીસ્ટેરીયાની પરીક્ષણ સ્ટ્રેઇન્સ એ એસ ઓરિયસ અને આર. ઇક્વિ ની સ્ટ્રીક્સ વચ્ચે આ ડી રીતે તદ્દન તેમને સ્પર્શ કર્યા વિના સ્ટ્રીક કરવામાં આવે છે. (આકૃતિ CAMP પ્લેટ પર કલ્ચરની છટાઓની ગોઠવણી દર્શાવે છે).



CAMP પ્લેટ 24 થી 48 **કલાક** સુધી 35°સે. પર ઇન્ક્યુબેટ કરો. એલ. મોનોસાયટોજેન્સ અને એલ. સેલિગેરીનું હિમોલિસિસ એસ. **ઓરિયસ** સ્ટ્રીકની નજીક વધારે આવે છે ; આર. ઇક્વિ સ્ટ્રીકની નજીક એલ. ઇવાનોવી હિમોલીસીસ વધારે આવે છે.

લીસ્ટેરીયા માટે બાયોકેમિકલ પરીક્ષણો

ગ્રામ સ્ટેનિંગ	ગ્રામ પોઝિટિવ ટૂંકા સળિયા જેવા આકારના
ગતિ	ગતિશીલ
મીથાઈલ રેડ **પરીક્ષણ**	હકારાત્મક
વોગસ- પ્રોસ્કૌર પરીક્ષણ	હકારાત્મક
યૂરીએઝ ટેસ્ટ	નકારાત્મક
કેટેલેઝ પરીક્ષણ	પોઝિટિવ (O_2 ગેસ ઉત્ક્રાંતિ ધીમી છે, તેથી માઇક્રોસ્કોપ હેઠળ અવલોકન કરો)
સાયટોક્રોમ **ઓ**ક્સિડેઝ પરીક્ષણ	નકારાત્મક
એસ્ક્યુલિન હાઇડ્રોલિસિસ	હકારાત્મક
ગ્લુકોઝથી એસિડ	સકારાત્મક (ફક્ત એસિડ. કોઈ ગેસ ઉત્પન્ન થતો નથી)
સાલિસીનથી એસિડ	નકારાત્મક

ગતિશીલતા પરીક્ષણ

બી.એચ.આઈ. બ્રોથમાં ઇનોક્યુલેટ કરો અને 28± 2°સે પર ઇન્ક્યુબેટ કરો. માઇક્રોસ્કોપિક સ્લાઇડ પર કલ્ચરનો એક ડ્રોપ લો અને માઇક્રોસ્કોપના ડાર્ક ક્ષેત્રમાં ઉચ્ચ શક્તિ (40X) હેઠળ અવલોકન કરો. લીસ્ટેરીયા ટમ્બલિંગ પ્રકાર ની ગતિશીલતા બતાવે છે.

વૈકલ્પિક રીતે, અમ્બ્રેલા મોટિલિટી મીડીયમમાં અનુમાનિત લીસ્ટેરીયા કલ્ચરને સ્ટેબ કરો અને 36-48 **કલાક** માટે 25-30 °સે પર ઇન્ક્યુબેટ કરો. લીસ્ટેરીયા છત્રી જેવી ગ્રોથ પેટર્ન બતાવે છે.

લીસ્ટેરીયા મોનોસાયટોજેન્સની પુષ્ટિ માટેના પરીક્ષણો

નાઇટ્રેટ રિડક્શન	નકારાત્મક
ડી- મેન્નીટોલ થી એસિડ	નકારાત્મક
એલ-રેમનોઝથી એસિડ	હકારાત્મક
ડી-ઝાયલોઝથી એસિડ	નકારાત્મક
આલ્ફા-મિથાઈલ-ડી-મેન્નોપાયરેનોસાઇડમાંથી એસિડ	હકારાત્મક
બ્લડ અગાર પર બીટા-હિમોલીસીસ	હકારાત્મક

લીસ્ટેરીયા પ્રજાતિઓની ભિન્નતા

પ્રજાતિઓ	મેન્નીટોલ	રેમનોઝ	ઝાયલોઝ	વિર્યુલન્સ	β- હિમોલિસિસ	સ્ટેફાયલોકોક્સ ઓરેયસ (એસ) સાથે હિમોલિસિસ વૃદ્ધિ	રહોડોકોક્સ સાથે હિમોલિસિસ વૃદ્ધિ
એલ. મોનોસાયટોજેન્સ	-	+	-	+	+	+	-
એલ. ઇવાનોવી	-	-	+	+	+	-	+
એલ. ઇનોકુઆ	-	V	-	-	-	-	-
એલ. વેલશીમેરી	-	V	+	-	-	-	-
એલ. સીલિગેરી	-	-	+	-	+	+	-
એલ. ગ્રેઇ	+	V	-	-	-		

- **v - ચલ પ્રતિક્રિયા**

માઇક્રોબાયોલોજિકલ મીડિયા

બફર્ડ લીસ્ટેરીયા એન્રિચમેન્ટ બ્રોથ (BLEB)

ટ્રાયપ્ટીકેઝ સોયા બ્રોથ	30 ગ્રામ
યીસ્ટ એક્સટ્રેક્ટ	6 ગ્રામ

મોનોપોટેશિયમ ફોસ્ફેટ (નિર્જલીકૃત)	1.35 ગ્રામ / લિટર
ડાયસોડિયમ ફોસ્ફેટ (નિર્જલીકૃત)	9.6 ગ્રામ / લિટર
સોડિયમ પાયરુવેટ (સોડિયમ સોલ્ટ)	1.11 ગ્રામ / લિટર
નિસ્યંદિત પાણી	1 લિટર
અંતિમ પીએચ	7.3 ± 0.1

[નોંધ: વૈકલ્પિક રીતે ફિલ્ટર-વંધ્યીકૃત 10% (w/v) સોડિયમ પાયરુવેટ સોલ્યુશન **ઓટોક્લેવિંગ** પછી ઉમેરી શકાય છે (11.1 મિલી/લિ)]

ઓક્સફર્ડ અગાર (OXA)

કોલમ્બિયા બ્લડ અગાર બેઝ	39.0 ગ્રામ
એસ્ક્યુલીન	1.0 ગ્રામ
ફેરીક એમોનિયમ સાઇટ્રેટ	0.5 ગ્રામ
લિથિયમ ક્લોરાઇડ	15.0 ગ્રામ
સાયક્લોહેક્સિમાઇડ	0.4 ગ્રામ
કોલિસ્ટિન સલ્ફેટ	0.02 ગ્રામ
એકરીફ્લેવિન	0.005 ગ્રામ
સેફોટેટન	0.002 ગ્રામ
ફોસ્ફોમિસિન	0.010 ગ્રામ
નિસ્યંદિત પાણી	1 લિટર

સંશોધિત ઓક્સફર્ડ અગાર (MOX અગાર)

કોલમ્બિયા બ્લડ અગાર બેઝ (બ્રાન્ડ આધારિત)	39.0-44.0 ગ્રામ
અગાર	2.0 ગ્રામ
એસ્ક્યુલીન	1.0 ગ્રામ
ફેરીક એમોનિયમ સાઇટ્રેટ	0.5 ગ્રામ
લિથિયમ ક્લોરાઇડ (સિગ્મા L0505 ગુણવત્તા અથવા સમકક્ષ)	15.0 ગ્રામ
બફર્ડ કોલિસ્ટિન મિથેન સલ્ફોનેટ (1% w/v) સોલ્યુશન	1.0 મિલી

નિસ્યંદિત પાણી	1.0 લિટર
પીએચ	7.2 ± 0.1

એસ્ક્યુલિન અને Fe^{3+} સાથે એલ.પી.એમ. (LPM)

ફિનાઈલઇથેનોલ અગાર (ડિફકો)	35.5 ગ્રામ
ગ્લાયસીન એનહાઇડ્રાઇસ (નોંધ: ગ્લાયસીન નથી)	10 ગ્રામ
લિથિયમ ક્લોરાઇડ	5 ગ્રામ
મોક્સાલેક્ટમ સ્ટોક સોલ્યુશન 1%,, ફોસ્ફેટ બફરમાં, પીએચ 6.0	2 મિલી
નિસ્યંદિત પાણી	1 લિટર
એસ્ક્યુલીન	1.0 ગ્રામ
ફેરીક એમોનિયમ સાઇટ્રેટ	0.5 ગ્રામ

PALCAM અગાર

પેપ્ટોન	23 ગ્રામ
સ્ટાર્ચ	1 ગ્રામ
NaCl	5 ગ્રામ
કોલમ્બિયા અગાર	13 ગ્રામ
મેન્નીટોલ	10 ગ્રામ
ફેરીક એમોનિયમ સાઇટ્રેટ	0.5 ગ્રામ
એસ્ક્યુલીન	0.8 ગ્રામ
ડેક્સ્ટ્રોઝ (ગ્લુકોઝ)	0.5 ગ્રામ
લિથિયમ ક્લોરાઇડ	15.0 ગ્રામ
ફિનોલ રેડ	0.08 ગ્રામ
નિસ્યંદિત પાણી	1000 મિલી
પીએચ	7.2 ± 0.1

પસંદગીયુક્ત એજન્ટો

પોલિમિક્સિન બી સલ્ફેટ	10 મિલિગ્રામ
એકરીફ્લેવિન	5 મિલિગ્રામ
સેફ્ટાઝિડિન	20 મિલિગ્રામ
નિસ્યંદિત પાણી	2 મિલી

આર એન્ડ એફ લીસ્ટેરીયા મોનોસાયટોજેન્સ ક્રોમોજેનિક પ્લેટિંગ મીડિયમ (આર એન્ડ એફ એલએમસીપીએમ)
– વ્યાપારી રૂપે ઉપલબ્ધ છે.

રેપિડ એલ મોનો અગાર,

પેપ્ટોન્સ	30 ગ્રામ
મીટ એક્સટ્રેક્ટ	5 ગ્રામ
યીસ્ટ એક્સટ્રેક્ટ	1 ગ્રામ
લિથિયમ ક્લોરાઇડ	9 ગ્રામ
પસંદગીયુક્ત પૂરવણીઓ	20 મિલી
ડી-ઝાયલોઝ	10 ગ્રામ
ફિનોલ રેડ	0.12 ગ્રામ
અગાર બેઝ	13 ગ્રામ
ક્રોમોજેનિક સબસ્ટ્રેટ	1 મિલી
નિસ્યંદિત પાણી	1000 મિલી
પીએચ	7.3 ± 0.1

મૂળ પેકેજિંગમાં અંધારામાં 2 - 8 ° સે. આ શરતો હેઠળ શેલ્ફ લાઇફ 4 મહિના છે.

ઓટ્ટાવિયાની(Ottaviani) અને એગોસ્ટી(Agosti) અનુસાર અગાર લીસ્ટેરીયા (ALOA) અથવા ઓક્સોઇડ ક્રોમોજેનિક લીસ્ટેરીયા અગાર (OCLA)

મીટ પેપ્ટોન	18 ગ્રામ
ટ્રિપ્ટોન	6 ગ્રામ

યીસ્ટ એક્સટ્રેક્ટ	10 ગ્રામ
સોડિયમ પાયરુવેટ	2 ગ્રામ
ગ્લુકોઝ	2 ગ્રામ
મેગ્નેશિયમ ગ્લિસોફોસ્ફેટ	1 ગ્રામ
મેગ્નેશિયમ સલ્ફેટ	0.5 ગ્રામ
સોડિયમ ક્લોરાઇડ	5 ગ્રામ
લિથિયમ ક્લોરાઇડ	10 ગ્રામ
ડાયસોડિયમ હાઇડ્રોજન ફોસ્ફેટ એનહાઇડ્રાઇસ	2.5 ગ્રામ
5-બ્રોમો-4-ક્લોરો -3-ઇન્ડોલીલ-β-ડી-ગ્લુકોપાયરેનોસાઇડ	0.05 ગ્રામ
અગાર, જેલેશન-તાકાત પ્રમાણે	12 ગ્રામ થી 18 ગ્રામ
પાણી, ફંજીસ્ટેટ ની માત્રા અનુસાર	925-930 મિલી
પીએચ	7.2 ± 0.2

0.6% યીસ્ટ એક્સ્ટ્રેક્ટ (TSAYE) સાથે ટ્રિપ્પ્ટીકેસ સોયા અગાર

ટ્રાયપ્ટીકેસ સોયા અગાર	40 ગ્રામ
યીસ્ટ એક્સટ્રેક્ટ	6 ગ્રામ
નિસ્યંદિત પાણી	1 લિટર
પીએચ	7.3 ± 0.2

સંદર્ભ

હિચિન્સ, એ.ડી., જિનિમેન, કે અને ચેન , વાય. (2017). ખાદ્ય અને પર્યાવરણીય નમૂનાઓમાંથી લીસ્ટેરીયા મોનોસાયટોજેન્સની શોધ , અને ખાદ્ય પદાર્થો માંથી લીસ્ટેરીયા મોનોસાયટોજેન્સની ગણતરી, બેક્ટેરિઓલોજિકલ વિશ્લેષણાત્મક મેન્યુઅલ, અધ્યાય 10.

****

યીસ્ટ્સ અને મોલ્ડ્સની ગણતરી

ટોમ્સ સી. જોસેફ

ફૂગ કે જે મલ્ટિસેલ્યુલર ફિલામેન્ટ્સ (હાઇ ફે) તરીકે વિકસી શકે છે તેને મોલ્ડ કહેવામાં આવે છે જ્યારે યીસ્ટસ એકલા કોષવાળો ફૂગ હોય છે. મોલ્ડ અને યીસ્ટનો મોટાભા ગે એરોબિક છે અને તે પીએચ 2 થી 9 ની વચ્ચે વૃદ્ધિ કરી શકે છે, સૂકી માછલી (0.85 અથવા તેથી વધુની વૉટર એકટીવીટી(a_w)) જેવા ઓછી ભેજવાળા ખોરાકમાં મોલ્ડ વિકસી શકે છે, જ્યારે યીસ્ટને વધુ વૉટર એકટીવીટીની જરૂર હોય છે. યીસ્ટ અને મોલ્ડના વિકાસના પરિણામે ગુણવત્તામાં ઘટાડો થઈ શકે છે અને પ્રોસેસરો અને ગ્રાહકોને ભારે આર્થિક નુકસાન થાય છે. માછલી પર મોલ્ડની વૃદ્ધિ વિવિધ કદ અને રંગો , સફેદ કપાસ જેવા અથવા રંગીન માયસિલિયમના વિકૃતિકરણ તરીકે પ્રગટ થશે. માછલી અથવા મત્સ્યઉદ્યોગનું ઉત્પાદન ફૂગથી મુક્ત દેખાઈ શકે છે , પરંતુ તે ફૂગથી મુક્ત છે કે કેમ એ માઇક્રોલોજીકલ પરીક્ષા પછી જ સ્થાપિત થઈ શકે છે.

ઘણાં ખોરાકજન્ય મોલ્ડ અને યીસ્ટ્સ , માનવ અથવા પ્રાણીઓના સ્વાસ્થ્ય માટે પણ હાનિકારક હોઈ શકે છે, કારણ કે તેમાંના ઘણામાં ઝેરી મેટાબોલાઇટ્સ, જેને માયકોટોક્સિન તરીકે ઓળખાય છે, ઉત્પન્ન કરવાની ક્ષમતા હોય છે. ઝેર ઉત્પન્ન કરનારા સજીવો ફૂડ પ્રોસેસિંગ દ્વારા અથવા રસોઈ દરમિયાન મરી શકે છે, તેમ છતાં, મોટાભાગના માયકોટોક્સિન સ્થિર સંયોજનો છે જે ગરમી દ્વારા નષ્ટ થતા નથી. કેટલાક ખોરાકજન્ય મોલ્ડ અને યીસ્ટથી એલર્જી થઈ શકે છે. મોટાભાગની ફૂગ બિન-ચેપી હોય છે , પરંતુ કેટલીક જાતિઓ વૃદ્ધ વસ્તી , એચ.આય.વી. સંક્રમિત વ્યક્તિઓ અને કીમોથેરેપી મેળવતા વ્યક્તિઓમાં ચેપ લાવી શકે છે.

બેક્ટેરિયાના વિકાસને રોકવા માટે એન્ટીબાયોટીક્સ સામાન્ય રીતે માયકોલોજિકલ મીડિયામાં (મોલ્ડ અને યીસ્ટના વિકાસ માટે વપરાયેલ માધ્યમો) ઉમેરવામાં આવે છે. ક્લોરામ્ફેનિકોલ એ એન્ટિબાયોટિકનો સૌથી વધુ ઉપયોગ થાય છે કારણ કે તે ઓટોકલેવની સ્થિતિમાં પણ સ્થિર છે. આ એન્ટિબાયોટિકની આગ્રહણીય સાંદ્રતા 100 મિલિગ્રામ/લિટર માધ્યમ છે. 40 મિલી નિસ્યંદિત પાણીમાં 0.1 ગ્રામ ક્લોરામ્ફેનિકોલ ઓગાળીને સ્ટોક સોલ્યુશન તૈયાર કરો. આ સોલ્યુશનને ઓટોકલેવિંગ પહેલાં 960 મિલી મીડિયા મિશ્રણમાં ઉમેરો.

નમૂનાકરણ અને નમૂના હોમોજેનેટની તૈયારી

- જંતુરહિત રીતે 50 ગ્રામ માછલીનું વજન જંતુરહિત નમૂના-ડીશ માં લો.
- 50 ગ્રામ નમૂનાને સ્ટો મેકર બેગમાં સ્થાનાંતરિત કરો અને 450 મિલી (જંતુરહિત ડાઇલ્યૂન્ટ) (0.1% પેપ્ટોન વૉટર) ઉમેરો અને સ્ટો મેકર માં 2 મિનિટ માટે મિશ્રણ કરો. આ પરિણામ 10^{-1} છે. વૈકલ્પિક રીતે , મોર્ટાર અને પેસ્ટલનો ઉપયોગ નમૂનાને એકરૂપ બનાવવા માટે કરી શકાય છે.

- અલગ જંતુરહિત પીપેટ નો ઉપયોગ કરીને, ઉપરોક્ત 10^{-1} માંથી 10 મિલીને જંતુરહિત ડાઇલ્યૂન્ટના 90 મિલીમાં સ્થાનાંતરિત કરો અને સારી રીતે ભળી દો. આ 10^{-2} આપે છે.
- ત્યારબાદ 10 મિલી ઉપરના 10^{-2} માંથી 90 મિલી જંતુરહિત ડાઇલ્યૂન્ટમાં સ્થાનાંતરિત કરો અને સારી રીતે ભળી દો. આ 10^{-3} આપે છે
- એ જ રીતે નમૂનાના સૂક્ષ્મજૈવિક લોડના આધારે વધુ ડાઇલ્યૂશન (10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6} વગેરે) તૈયાર કરો.

પ્લેટિંગ અને નમૂનાનું ઇન્ક્યુબેશન

સ્પ્રેડ-પ્લેટ પદ્ધતિ

ડીઆરબીસી અગાર પ્લેટો પર ત્રિવિધમાં દરેક ડાઇલ્યૂશનના 0.1 મિલી ઇનોક્યુલેટ કરવામાં આવે છે અને ઇનોક્યુલમને, વાળેલા કાચની સળિયાથી ફેલા વવામાં આવે છે. જ્યારે વિશ્લેષિત નમૂનાની વૉટર એકટીવીટી 0.95 કરતા ઓછી હોય, ત્યારે ડીજી18 મીડિયાને પ્રાધાન્ય આપવામાં આવે છે.

પોર-પ્લેટ પદ્ધતિ

દરેક ડાઇલ્યૂશનના એક મિલીને જંતુરહિત પેટ્રી પ્લેટો પર ઇનોક્યુલેટ કરવામાં આવે છે અને ઉકાળીને 45°સે એ ઠંડુ કરેલું ડીજી 18 અગાર 20-25 મિલી રેડવું. ઘડિયાળની દિશામાં ધીમેથી પ્લેટો દ્વારા સમાવિષ્ટોને મિક્સ કરો, પછી કાઉન્ટરક્લોકવાઇઝ, ડીશ પર છંટકાવ ટાળવા માટે કાળજી લો. દરેક ડાઇલ્યૂશન ત્રિવિધમાં પ્લેટિંગ કરવું જોઈએ.

યીસ્ટ્સ અને મોલ્ડ્સની ગણતરી માટે, સ્પ્રેડ પ્લેટિંગ પોર-પ્લેટ પદ્ધતિ કરતા વધુ સારી માનવામાં આવે છે. સપાટી પર ફંગલ કોલોનીઓ પોર-પ્લેટિંગમાં સપાટીની નીચેની કોલોની કરતા ઝડપથી વધે છે અને આમ સપાટીની નીચેની કોલોની સ્પષ્ટ દેખાતી નથી. ડીઆરબીસી અગારનો ઉપયોગ ફક્ત સ્પ્રેડ પ્લેટો માટે થવો જોઈએ.

25°સે તાપમાને અંધારામાં પ્લેટો ઇન્ક્યુબેટ કરો. ગણતરી સુધી પ્લેટોને ઉંધી ન કરો અને પ્લેટોને ખલેલ પહોંચાડો નહીં.

પ્લેટોની ગણતરી

ઇન્ક્યુબેશનના 5 દિવસ પછી પ્લેટો પરની કોલોની ગણી શકાય. જો 5 દિવસમાં કોઈ વૃદ્ધિ ન થાય તો, બીજા 48 ક માટે ફરીથી ઇન્ક્યુબેટ કરો. ઇન્ક્યુબેશનના સમયગાળા પહેલા કોલોનીની ગણતરીના પરિણામ રૂપે વિખેરાયેલા બીજકણમાંથી ગૌણ વૃદ્ધિ થઈ શકે છે અને તેથી અંતિમ ગણતરી અમાન્ય થઈ શકે છે. 10-150 કોલોનીવાળી પ્લેટોની ગણતરી કરવામાં આવે છે. ત્રિવિધ પ્લેટોની સરેરાશ ગણતરી લેવામાં આવે છે અને પરિણામો કોલોની ફોર્મિંગ યુનિટ્સ સીએફયુ/ ગ્રામ માં નોંધવામાં આવે છે. જ્યારે તમામ ડાઇલ્યૂશન પ્લેટોમાં કોઈ કોલોની

નથી ત્યારે યીસ્ટ્સ અને મોલ્ડ્સની ગણતરીઓ સૌથી નીચા ડાઇલ્યૂશનથી 1 ગણા કરતા ઓછી નોંધવામાં આવે છે.

મીડિયા

ડાઇક્લોરેન 18 % ગ્લિસરોલ (ડીજી18) અગાર

રીએજન્ટ	જથ્થો
ગ્લુકોઝ	10.0 ગ્રામ
પેપ્ટોન	5.0 ગ્રામ
KH_2PO_4	1.0 ગ્રામ
$MgSO_4 \bullet 7H_2O$	0.5 ગ્રામ
ડાઇક્લોરેન(2,6- ડાયકલોરો-4-નાઇટ્રોએનીલીન) સોલ્યુશન (0.2% (w/v) ઇથેનોલમાં)	1.0 મિલી
ક્લોરામ્ફેનિકોલ	0.1 ગ્રામ
અગાર	15.0 ગ્રામ
નિસ્યંદિત પાણી	800 મિલી

અગાર વિસર્જન કરવા માટે ઉપરની બધી વસ્તુઓ મિશ્રિત કરીને બોઇલિંગ વૉટર બાથ માં ગરમ કરવામાં આવે છે. પછી નિસ્યંદિત પાણીથી 1000 મિલી વોલ્યુમ બનાવો. 220 ગ્રામ ગ્લિસરોલ (વિશ્લેષણાત્મક રીએજન્ટ ગ્રેડ) ઉમેર્યા પછી 15 મિનિટ માટે 121 ° સે પર ઓટોક્લેવિંગ દ્વારા વંધ્યીકૃત કરો. 45 ° સે ઠંડુ કર્યા પછી એસેપ્ટિક પરિસ્થિતિઓમાં પ્લેટોમાં રેડવું. આ માધ્યમની અંતિમ a_w 0.955 છે.

ડીજી18 અગારનો ઉપયોગ મોલ્ડની ગણતરી માટે થાય છે અને જ્યારે વિશ્લેષિત ખાદ્યપદાર્થોમાં a_w નું મૂલ્ય 0.95 કરતા ઓછું હોય ત્યારે પ્રાધાન્ય આપવામાં આવે છે. માધ્યમની ઓછી વૉટર એકટીવીટી બેક્ટેરિયા અને ઝડપથી વધતી ફૂગના દખલને ઘટાડશે. જ્યારે બંને યીસ્ટ અને મોલ્ડને ગણતરીમાં લેવાની હોય , ત્યારે ડીઆરબીસી અગારનો ઉપયોગ કરવો જોઈએ.

ડાઇક્લોરેન રોઝ બેંગલ ક્લોરામ્ફેનિકોલ (ડીઆરબીસી) અગાર

રીએજન્ટ	જથ્થો
ગ્લુકોઝ	10.0 ગ્રામ
બેક્ટેરિઓલોજિકલ પેપ્ટોન	5.0 ગ્રામ
KH_2PO_4	1.0 ગ્રામ

રીએજન્ટ	**જથ્થો**
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.5 ગ્રામ
રોઝ બેંગલ (5% જલીય સોલ્યૂશન, w/v)	0.5 મિલી
ડાઇક્લોરેન (0.2% w/v ઇથેનોલમાં)	1.0 મિલી
ક્લોરામ્ફેનિકોલ	0.1 ગ્રામ
અગાર	15.0 ગ્રામ
નિસ્યંદિત પાણી	1.0 લિટર
પીએચ = 5.6	

ઘટકો મિક્સ કરો અને અગાર વિસર્જન કરવા માટે ગરમ કરો, 15 મિનિટ માટે 121 ° સે પર ઓટોક્લેવિંગ દ્વારા વંધ્યીકૃત કરો. વૉટર બાથ માં 45 ° સે ઠંડુ કરો અને પ્લેટો માં રેડો.

ડીઆરબીસી અગારમાં ડાઇક્લોરેન અને રોઝ બેંગલની હાજરી ઝડપ થી વિકસી રહેલા ફૂગના વિકાસને ધીમું કરે છે અને તેથી તે "સ્પ્રેડર" મોલ્ડ (દા.ત. મ્યુકોર , રાઇઝોપસ, વગેરે) ધરાવતા નમૂનાઓના વિશ્લેષણ માટે ખાસ કરીને ઉપયોગી છે , આમ વૃદ્ધિ દર ઓછા હોય તેવા અન્ય મોલ્ડ અને યીસ્ટના પ્રચારને સરળતાથી શોધવાની મંજૂરી આપે છે.

રોઝ બેંગલ ધરાવતા માધ્યમો પ્રકાશ સંવેદનશીલ હોય છે ; પ્રકાશના પ્રમાણમાં ટૂંકા સંપર્કમાં અવરોધક સંયોજનોની રચનામાં પરિણમશે. ઉપયોગ ન થાય ત્યાં સુધી આ મીડિયાને અંધારાવાળી, ઠંડી જગ્યાએ રાખો. ડીઆરબીસી અગારનો ઉપયોગ ફક્ત સ્પ્રેડ પ્લેટો માટે થવો જોઈએ.

સંદર્ભ

ટોર્નાસ, વી., સ્ટેક, એમ. ઇ., મિસલિવેક, પી. બી., કોચ, એચ, એ અને બેન્ડલર , આર (2001). બેક્ટેરિઓલોજિકલ વિશ્લેષણાત્મક મેન્યુઅલ, પ્રકરણ 18, યુએસએફડીએ.

સુરેન્દ્રન, પી.કે., થામપુરન, એન., નંબિયાર, વી.એન., લલિતા, કે.વી. અને જોસેફ, ટી.સી., 2013, સીફૂડની સુક્ષ્મજીવાણિક પરીક્ષા માટે પ્રયોગશાળા તકનીકો. ચોથી આવૃત્તિ , સેન્ટ્રલ ઇન્સ્ટિટ્યૂટ ફિશરીઝ ટેક્નોલોજી, કોચીન -682029, ભારત. 117-120 પૃષ્ઠ.

****

બેક્ટેરિયલ ઓળખ માટે બાયોકેમિકલ પરીક્ષણો
અનુપમા ટી.કે.

બેક્ટેરિયાની ઓળખ માટે બાયોકેમિકલ પરિક્ષણો સૌથી મહત્વપૂર્ણ પદ્ધતિઓ છે. સામાન્ય રીતે ઉપયોગમાં લેવાતા બાયોકેમિકલ પરીક્ષણો નીચે જણાવેલ છે.

1. **કાર્બોહાઇડ્રેટ ફર્મેન્ટેશન પરીક્ષણ**

કાર્બોહાઇડ્રેટ ફર્મેન્ટેશન પરીક્ષણનો ઉપયોગ બેક્ટેરિયા ચોક્કસ કાર્બોહાઇડ્રેટનો ઉપયોગ કરી શકે છે કે કેમ તે નક્કી કરવા માટે થાય છે. કાર્બોહાઇડ્રેટ ફર્મેન્ટેશનની પદ્ધતિઓ બેક્ટેરિયલ જૂથો અથવા જાતોના તફાવત માટે ઉપયોગી છે

- વાયર લૂપ થી કાર્બોહાઇડ્રેટ મીડિયા (દરેકમાં ગ્લુકોઝ , ફ્રૂકટોઝ, માલટોઝ, લેક્ટોઝ, સુક્રોઝ વગેરે જેવા ચોક્કસ શર્કરાવાળા) ટ્યુબને ઇનોક્યુલેટ કરો.
- ખાતરી કરો કે ઇનોકુલમ ટ્યુબની નીચે પહોંચે છે.
- 35-37 °**સે** તાપમાન 24-48 ક માટે ઇન્ક્યુબેટ કરો.
- એસિડનું ઉત્પાદન રંગમાં પરિવર્તન દ્વારા સૂચવવામાં આવે છે અને ગેસના ઉત્પાદનને ઉંધી ડરહામની નળીમાં પરપોટાની રચના દ્વારા જોઈ શકાય છે.
- નિયંત્રણો એક સાથે ચલાવો (સકારાત્મક અને નકારાત્મક ક્લચર).

2. **કેટેલેઝ પરીક્ષણ**

કેટેલેઝ એન્ઝાઇમ ઉત્પન્ન કરવાની સુક્ષ્મસજીવોની ક્ષમતા ચકાસવા માટે કેટેલેઝ પરીક્ષણ કરવામાં આવે છે.

- વાયર લૂપનો ઉપયોગ કરીને સ્વચ્છ ગ્લાસ સ્લાઇડ અથવા સ્પોટ પ્લેટ પર યુવાન ક્લચરનો ડ્રોપ મૂકો.
- ક્લચરપર **30%** હાઇડ્રોજન પેરોક્સાઇડના **2-3** ટીપાં ઉમેરો. ક્લચરમાંથી ગેસની ઉત્ક્રાંતિ સકારાત્મક પ્રતિક્રિયા સૂચવે છે.

3. **સાઇટ્રેટ પરીક્ષણ**

સાઇટ્રેટ યુ ટીલાઇઝેશન પરીક્ષણનો ઉપયોગ બેક્ટેરિયાની સોડિયમ સાઇટ્રેટનો એક માત્ર કાર્બન સ્રોત તરીકે ઉપયોગ કરવાની ક્ષમતા નક્કી કરવા માટે કરવામાં આવે છે.

- 18 થી 24 કલાક જૂની કોલોની ને સોયની ટોચ થી સ્પર્શ કરીને સિમોન્સ સાઇટ્રેટ અગારને થોડો ઇનોક્યુલેટ કરો.

- 18 થી 24 કલાક માટે 35 ° સે તાપમાને ઇન્ક્યુબેટ કરો .. કેટલાક સજીવોને સાઇટ્રેટ માધ્યમ પર તેમની મર્યાદિત વૃદ્ધિને લીધે 7 દિવસ સુધીના ઇન્ક્યુબેશનની જરૂર પડી શકે છે.
- વાદળી રંગના વિકાસનું નિરીક્ષણ કરો જે ક્ષારયુક્તતા સૂચવે છે.

4. **કોએગ્યુલેઝ પરીક્ષણ**

કોએગ્યુલેઝ પરીક્ષણનો ઉપયોગ બેક્ટેરિયા દ્વારા કોએગ્યુલેઝ એન્ઝાઇમના ઉત્પાદનને નિર્ધારિત કરવા માટે થાય છે. સ્ટેફાયલોકોકસ ઓરિયસ કોએગ્યુલેઝ ઉત્પન્ન કરે છે જ્યારે કોએગ્યુલેઝ નેગેટિવ સ્ટેફાયલોકોકસ (સીએનએસ) ઉત્પન્ન કરતું નથી. એસ . ઓરિયસ દ્વારા ઉત્પાદિત કોએગ્યુલેઝ એન્ઝાઇમ પ્લાઝ્મામાં દ્રાવ્ય ફાઈબ્રિનોજનને અદ્રાવ્ય ફાઈબ્રિનમાં ફેરવે છે.

- શંકાસ્પદ એસ. ઓરિયસ કોલોનીને 0.2-0.3 મિલી બીએચઆઇ બ્રોથ ધરાવતા નાના ટ્યુબમાં સ્થાનાંતરિત કરો અને સારી રીતે મિશ્રણ કરો.
- યોગ્ય જાળવણી માધ્યમની અગાર સ્લેંટ પર ઇનોક્યુલેટ કરો, દા.ત., ટી.એસ.એ. (ટ્રિપ્ટીકેસ સોયા અગાર), BHI સસ્પેન્શનની લૂપ્સ સાથે.
- 18 થી 24 કલાક માટે 35-37 ° સે તાપમાને ઇન્ક્યુબેટ કરો.
- બીએચઆઇ ક્લચરમાં ઇડીટીએ સાથે 0.5 મિલી પુનર્ગઠિત કોગ્યુલેઝ પ્લાઝ્મા ઉમેરો અને સારી રીતે મિશ્રણ કરો.
- 35-37 ° સે તાપમાને ઇન્ક્યુબેટ કરો અને ગંઠન રચના માટે સમયાંતરે 6 કલાકની અવધિ સુધી તપાસ કરો.
- ટ્યુબ નમેલી અથવા ઉંધી હોય ત્યારે સ્થિર અને સંપૂર્ણ ગંઠાઇને એસ. ઓરિયસ માટે સકારાત્મક માનવામાં આવે છે.
- કોએગ્યુલેઝ પ્રવૃત્તિની શંકાસ્પદ ક્લચર સાથે સાથે હકારાત્મક અને નકારાત્મક ક્લચરની કસોટી પણ કરવી જોઈએ.

5. **ડીકારબોક્સિલેઝ પરીક્ષણો**

ડીકરબોક્સિલેઝ પરીક્ષણનો ઉપયોગ એમાઈન રચવા માટે એમિનો એસિડને ડીકારબોક્સિલેટ (અથવા હાઇડ્રોલાઇઝ) કરવા માટે સજીવમાં ડીકારબોક્સિલેઝ એન્ઝાઇમની ક્ષમતાને માપવા માટે થાય છે. એમિનો એસિડનું ડીકાર્બોક્સિલેશન અથવા હાઇડ્રોલિસિસ આલ્કલાઇન પીએચમાં પરિણમે છે. માધ્યમની વધેલી પીએચ , પી.એચ. સૂચકાંકો , બ્રોમક્રેસોલ પર્પલ અને ક્રેસોલ રેડ ના રંગ બદલાવ દ્વારા શોધી કાઢવામાં આવે છે , જેના પરિણામે નારંગીથી જાંબુડિયામાં રંગ બદલાય છે.

- ટીએસએ સ્લેન્ટ્સમાંથી યુવાન ક્લચર સાથે ડેકાર્બોક્સીલેઝ માધ્યમ (લાઇસિન , આર્જિનિન અથવા ઓર્નિથિન ધરાવતો) ઇનોક્યુલેટ કરો.
- જંતુરહિત પ્રવાહી પેરાફિન (આશરે 1 સે.મી. ઉંચાઈ) ઉમેરો અને $35 \pm 2°$ સે તાપમાને ઇન્ક્યુબેટ કરો.
- ચાર દિવસ માટે દરરોજ પરીક્ષણ કરો.
- એસિડના ઉત્પાદનને કારણે માધ્યમ પ્રથમ પીળો થાય છે. પછીથી જો ડીકારબોક્સિલેશન થાય છે, તો માધ્યમ ક્ષારયુક્ત (જાંબુડિયા) માં બદલાય છે.
- કંટ્રોલ ટ્યુબ્સનો રંગ સમગ્ર સમયગાળા દરમિયાન એસિડ (પીળો) રહે છે.

6. **હાઇડ્રોજન સલ્ફાઇડ ઉત્પાદન**

હાઈડ્રોજન સલ્ફાઇડ (H_2S) ઉત્પાદન પરીક્ષણનો ઉપયોગ સજીવ દ્વારા હાઇડ્રોજન સલ્ફાઇડ (H_2S) ગેસના ઉત્પાદનને શોધવા માટે થાય છે અને તેનો ઉપયોગ મુખ્યત્વે કુટુંબ એન્ટરોબેક્ટેરિયાસીના સભ્યોની ઓળખમાં થાય છે. H_2S ચોક્કસ બેક્ટેરિયા દ્વારા સિસ્ટાઇન , મેથિઓનાઇન જેવા સલ્ફર ધરાવતા એમિનો એસિડ ના રિડક્શન દ્વારા અથવા થાયોસલ્ફેટ્સ, સલ્ફેટ્સ અથવા સલ્ફાઇટ્સ જેવા અકાર્બનિક સલ્ફર સંયોજનોના રિડક્શન દ્વારા ઉત્પન્ન થાય છે. હાઈડ્રોજન સલ્ફાઇડ ઉત્પાદન , સલ્ફર સબસ્ટ્રેટ્સ તરીકે સિસ્ટાઇન અને સોડિયમ થાયોસલ્ફેટ્સ ધરાવતા પોષક સંવર્ધનના માધ્યમમાં આયર્ન અથવા H_2S સૂચક તરીકે લેડ ધરાવતા ભારે ધાતુના મીઠાનો સમાવેશ કરીને શોધી શકાય છે. સુક્ષ્મસજીવો દ્વારા ઉત્પન્ન થયેલ હાઇડ્રોજન સલ્ફાઇડ ધાતુના મીઠાની સાથે પ્રતિક્રિયા આપે છે જે ફેરસ સલ્ફાઇડના દ્રશ્યમાન અદ્રાવ્ય કાળા અવક્ષેપ બનાવે છે.

- ટીટીઆઈ (ટ્રિપલ સુગર આયર્ન) અગાર પર બટ્ને સ્ટેબ કરીને અને સ્લેંટ ને સ્ટ્રીક કરીને યુવાન ક્લચરને ઇનોક્યુલેટ કરો.
- $35 \pm 2°$ સે પર 24-48 કલાક માટે ઇન્ક્યુબેટ કરો.
- સ્ટેબ ઇનોક્યુલેશનની લાઇન સાથે કાળા થવા માટે ટ્યુબ્સનું નિરીક્ષણ કરો.

7. **ઇન્ડોલનું ઉત્પાદન**

ઈન્ડોલ પરીક્ષણનો ઉપયોગ ઇન્ડોલ રચવા માટે એમિનો એસિડ ટ્રિપ્ટોફેનને વિભાજીત કરવાની સજીવની ક્ષમતાને નિર્ધારિત કરવા માટે થાય છે. ટ્રિપ્ટોફેનને ઇન્ડોલ ઉત્પન્ન કરવા માટે બેક્ટેરિયા દ્વારા ઉત્પાદિત ટ્રિપ્ટોફેનેસ દ્વારા હાઇડ્રોલિસ કરવામાં આવે છે. ઈન્ડોલનું ઉત્પાદન કોવાક અથવા એહરલિચના રીએજન્ટ દ્વારા શોધી કાઢવામાં આવે છે જેમાં p-ડાઇમિથાઇલએમાઈનોબેન્ઝાલ્ડીહાઇડ શામેલ છે , જે લાલ રંગના સંયોજન પેદા કરવા માટે ઇન્ડોલ સાથે પ્રતિક્રિયા આપે છે.

- ટ્રિપ્ટોન બ્રોથમાં શંકાસ્પદ ક્લચરને ઇનોક્યુલેટ કરો અને $35 \pm 2°$ સે પર 24-48 કલાક માટે ઇન્ક્યુબેટ કરો.
- કોવાક્સ રીએજેન્ટના 0.2-0.3 મિલી ઉમેરીને ઇન્ડોલ માટે પરીક્ષણ કરો.
- ઉપલા સ્તરમાં અલગ લાલ રંગનો દેખાવ એ સકારાત્મક પરીક્ષણ છે.

8. **વોગસ-પ્રોસ્કૌર (વીપી) પરીક્ષણ**

ગ્લુકોઝ ફર્મેન્ટેશનથી બેક્ટેરિયા દ્વારા એસિ ટાઇલમિથાઇલ કાર્બિનોલનું નિર્ધારણ નક્કી કરવા માટે વોગ સ-પ્રોસ્કૌર (વીપી) પરીક્ષણનો ઉપયોગ થાય છે. એસિ ટાઇલમિથાઇલ કાર્બિનોલ, જો હાજર હોય તો, α-નેફ્થોલ, મજબૂત આલ્કલી (40% KOH) અને વાતાવરણીય ઓક્સિજનની હાજરીમાં ડાયએસિટાઇલમાં ફેરવાય છે.

- એમઆર-વીપી બ્રોથમાં શંકાસ્પદ ક્લચરને ઇનોક્યુલેટ કરો અને 48 ± 2 કલાક માટે 35 ± 0.5 ° સે. તાપમાન પર ઇન્ક્યુબેટ કરો.
- ઇન્ક્યુબેટ કરેલ ક્લચરના 1 મિલી ને 13×100 મીમી ટ્યૂબમાં સ્થાનાંતરિત કરો.
- 0.6 એમએલ α-નેફ્થોલ સોલ્યુશન અને 0.2 એમએલ 40% KOH ઉમેરો, અને મિશ્ર કરો. ક્રિએટાઇનના થોડા સ્ફટિકો ઉમેરો.
- મિશ્ર કરો અને 2 કલાક રહેવા દો. જો ઇઓસિન ગુલાબી રંગ વિકસે તો પરીક્ષણ સકારાત્મક છે.

9. **મિથાઇલ રેડ પરીક્ષણ**

મિથાઇલ રેડ (એમઆર) પરીક્ષણ ગ્લુકોઝમાંથી સ્થિર એસિડ અંત ઉત્પાદનો (લેક્ટેટ , એસિટેટ, સકસીનેટ અને ફોર્મેટ) ઉત્પન્ન કરવાની બેક્ટેરિયાની ક્ષમતા નક્કી કરે છે. એસિડ માધ્યમને એસિડિક પીએચ પ્રાપ્ત કરવા માટેનું કારણ બને છે. મિથાઇલ રેડનો ઉપયોગ પીએચ સૂચક તરીકે થાય છે જે 4.4 અથવા ઓછા પીએચ પર લાલ રંગનો હોય છે.

- વી.પી. પરીક્ષણ પછી, એમઆર-વીપી ટ્યુબને 35 ± 0.5 ° સે તાપમાને વધારાની 48 ± 2 કલાક ઇન્ક્યુબેટ કરો.
- દરેક ટ્યુબમાં મિથાઇલ રેડ સોલ્યુશનના 5 ટીપાં ઉમેરો.
- ચોક્કસ લાલ રંગ હકારાત્મક કસોટી છે.
- પીળો રંગ નકારાત્મક પ્રતિક્રિયા છે.

10. ઓક્સિડેઝ (સાયટોક્રોમ ઓક્સિડેઝ) પરીક્ષણ (કોવાકની પદ્ધતિ)

કોવાકનું સાયટોક્રોમ ઓક્સિડેઝ રીએજન્ટ:

ઓક્સિડેઝ પરીક્ષણનો ઉપયોગ બેક્ટેરિયાને ઓળખવા માટે થાય છે જે સાયટોક્રોમ સી ઓક્સિડેઝ ઉત્પન્ન કરે છે , જે બેક્ટેરિયલ ઇલેક્ટ્રોન પરિવહન શૃંખલાનું એક એન્ઝાઇમ છે. બેક્ટેરિયામાં હાજર હોય ત્યારે સાયટોક્રોમ સી ઓક્સિડેઝ રીએજન્ટ (ટેટ્રામીથાઈલ-p-ફિનિલિનડાઈએમાઇન) ને ઇંડો ફિનોલ્સમાં ઓક્સિડેઝ કરે છે જે જાંબુડિયા હોય છે. જ્યારે એન્ઝાઇમ હાજર નથી, ત્યારે રીએજન્ટ રિડક્શન ની સ્થિતિ માં રહે છે અને રંગહીન છે.

N,N,N',N'- ટેટ્રામીથાઈલ-p-ફિનિલિનડાઈએમાઇન ડાયહાઇડ્રોક્લોરાઇડ --- 0.25 ગ્રામ

નિસ્યંદિત પાણી ------ 25 મિલી

રેફ્રિજરેટર પર સ્ટોર કરો અને ઉપયોગ કરતા પહેલા તાજું સોલ્યુશન બનાવવું જોઈએ.

કાચની લાકડી અથવા પ્લેટિનમ લૂપથી કેટલાક યુવાન ક્લચરને પરીક્ષણ કાગળ પર ઘસવું (કોવાકના સાયટોક્રોમ ઓક્સિડેઝ રીએજન્ટથી ફિલ્ટર કાગળનો ટુકડો પહેલેથી જ ફળદ્રુપ છે).

30-60 સેકન્ડની અંદર વાદળી રંગનો વિકાસ એ સકારાત્મક પરીક્ષણ સૂચવે છે.

12. યૂરીએઝ પરીક્ષણ

યૂરીએઝ પરીક્ષણનો ઉપયોગ યૂરીએઝ ઉત્પન્ન કરવાની સજીવની ક્ષમતા નક્કી કરવા માટે થાય છે. બેક્ટેરિયા દ્વારા ઉત્પન્ન થયેલ યૂરીએઝ, યુરિયાનું હાઇડ્રોલિસિસ કરે છે. અને એમોનિયા અને કાર્બન ડાયોક્સાઇડ ઉત્પન્ન કરે છે. એમોનિયા ઉત્પન્ન થયેલ માધ્યમને આલ્કલાઈન બનાવે છે, અને મીડિયા નો કલર નારંગી(pH 6.8) માંથી ગુલાબી(pH 8.1) થાય છે

જંતુરહિત સોય સાથે, યુરિયા બ્રોથના ટ્યુબમાં ટીએસઆઈ (ટ્રિપલ સુગર આયર્ન) સ્લેંટ માંથી ક્લચર ઇનોક્યુલેટ કરો..

- 35 ° સે. તાપમાન પર 24 ± 2 કલાક ઇન્ક્યુબેટ કરો.
- જો યૂરીએઝ હાજર હોય, તો યુરિયા એમોનિયામાં બદલાઈ જાય છે, જે સૂચકના પીળા રંગ ને ગુલાબી રંગમાં બદલી દે છે.

સંદર્ભ

- ફેંગ, પી., વેગન્ટ, એસ.ડી., ગ્રાન્ટ, એમ. એ. અને બર્કહર્ટ , ડબલ્યુ. (**2002)** બેક્ટેરિઓલોજિકલ એનાલિટીકલ મેન્યુઅલ, પ્રકરણ **4,** યુએસએફડીએ.
- કેસનર, સી.એ. અને ડીપોલા , જુનિયર એ. (**2004)** બેક્ટેરિઓલોજિકલ એનાલિટીકલ મેન્યુઅલ, પ્રકરણ **9,** યુએસએફડીએ.

- સુરેન્દ્રન, પી.કે., થામપુરાણ, એન., નંબિયાર, વી.એન., લલિતા, કે.વી. અને જોસેફ, ટી.સી., **(2013)** સીફૂડની માઇક્રોબાયોલોજીકલ પરીક્ષા માટે પ્રયોગશાળા તકનીકો. ચોથી આવૃત્તિ, સેન્ટ્રલ ઇન્સ્ટિટ્યૂટ **ટેક્નોલોજી**, કોચીન **-682029,** ભારત

****

સીફૂડ સ્પોઇલેજનું માઇક્રોબાયોલોજી

રમ્યા એસ.

પરિચય

- માછલી એ ખૂબ જલ્દી થી બગડી જતો ખોરાક છે, જેને પાણીમાંથી બહાર કાઢવામાં આવે છે તે સમયે તે બગડવાનું શરૂ કરે છે.
- માછલીની મૃત્યુ થતાં જ , ફેરફારોની શ્રેણી શરૂ થવાની શરૂઆત થાય છે , જેને સામૂહિક રીતે બગાડ તરીકે ઓળખવામાં આવે છે.
- પેશીઓની અધોગતિ માછલીના સ્થાનિક એન્ઝાઇમ અને સુક્ષ્મસજીવો , બંને દ્વારા કરવામાં આવે છે, જે ત્વચાની સપાટી પર, ગિલ્સ પર અને આંતરડામાં હોય છે.
- સ્પોઇલેજ માછલીની શેલ્ફ લાઇફ / રાખવાની ગુણવત્તાને ઘટાડે છે.

માછલીની 'તાજગી' કેવી રીતે નક્કી કરવામાં આવે છે?

લાક્ષણિકતા	વર્ણન
આંખો	તેજસ્વી અને ઉપસેલી, ડૂબેલી કે વાદળછાયું નહીં
ગિલ્સ	તેજસ્વી લાલ અથવા ગુલાબી
ત્વચા	ચમકીલી
સ્લાઇમ	ત્વચા અથવા ગિલ્સ પર હાજર હોઈ શકે છે.
ગંધ	ગિલ ગંધ તીક્ષ્ણ અને સમુદ્રતલ હોવી જોઈએ

માછલીનું સ્પોઇલેજ / માછલી કેવી રીતે ખરાબ થાય છે?

- સૂક્ષ્મજૈવિક બગાડ
- એન્ઝાઇમેટિક બગાડ / ઉત્સેચકો દ્વારા સ્વ:પાચન (ઓટોલેટીક ફેરફારો)
- કેમિકલ બગાડ (ઓક્સિડેશન અને હાઇડ્રોલિસિસ)

માછલીનું સૂક્ષ્મજૈવિક બગાડ

- માછલી પર વધતા બધા બેક્ટેરિયા વાંધાજનક લાક્ષણિકતાઓના નિર્માણ તરફ દોરી જશે નહીં. બેક્ટેરિયાની પ્રજાતિઓનો એક લઘુમતી સમૂહ મોટાભાગના બગાડ સાથે સંકળાયેલો હોય છે , જેને ઘણીવાર નિર્દિષ્ટ બગાડ સજીવ (સ્પેસીફીક સ્પોઇલેજ ઓર્ગેનીઝમ-એસએસઓ) કહેવામાં આવે છે.

- માછલીના સૂક્ષ્મજૈવિક બગાડને સામાન્ય રીતે પ્રોટીઓલિટીક પ્રક્રિયા તરીકે વર્ણવવામાં આવે છે (અપવાદ :મોલ્લસ્કન્સ) તેથી પીએચ વધે છે.

બેક્ટેરિયા ક્યાંથી આવે છે?

- બેક્ટેરિયા, ત્વચા, ગિલ્સ અને માછલીના આંતરડા સહિત પ્રકૃતિમાં વ્યવહારીક બધે જોવા મળે છે.
- નવી પકડેલી તંદુરસ્ત માછલીમાં જંતુરહિત પેશીઓ હોય છે અને બેક્ટેરિયા ફક્ત ત્વચા, ગિલ્સ અને આંતરડામાં જ મળી શકે છે.
- જ્યારે માછલી જીવંત હોય છે , ત્યારે તેની કુદરતી સંરક્ષણ પદ્ધતિઓ માછલીના પેશીઓમાં આ બેક્ટેરિયાના આક્રમણને અટકાવે છે. તેથી , તેઓ માછલીની સપાટી પર કોઈ નુકસાન પહોંચાડ્યા વિના ખાય છે, વૃદ્ધિ કરે છે અને ગુણાકાર કરે છે. હકીકતમાં , આમાંથી ઘણી માછલીઓ માટે ઉપયોગી છે. ઉદાહરણ તરીકે , આંતરડામાં રહેલા બેક્ટેરિયા માછલીને તેના ખોરાકને પચાવવામાં મદદ કરે છે.
- માછલી જીવંત છે ત્યારે માછલી અને બેક્ટેરિયા સંતુલનની સ્થિતિમાં અસ્તિત્વમાં છે , પરંતુ માછલી ના મૃત્યુ પછી જ બેક્ટેરિયા પેશીઓ પર આક્રમણ કરી માછલીને બગાડી શકે છે.
- આંતરડામાંથી સ્નાયુઓના આક્રમણને આંતરડાના એન્ઝાઇમ દ્વારા લાવવામાં આવેલા ઓટોલીસીસ દ્વારા સરળ બનાવવામાં આવે છે.
- જ્યારે માછલી તાજેતરમાં જ ખોરાક લે છે ત્યારે આંતરડામાં બેક્ટેરિયાની સંખ્યા સૌથી વધુ હોય છે.
- પ્રદૂષિત પાણીથી પકડેલી માછલી શુધ્ધ પાણીની માછલી કરતા વધુ દૂષિત હશે.
- એકવાર માછલી પકડ્યા પછી , તે બરફ, માછલીના બોક્સ, બોટ અને ક્રૂ જેના સંપર્કમાં આવે છે તે બધી સામગ્રી દ્વારા તે અમુક હદ સુધી દૂષિત થઈ જાય છે.

બેક્ટેરિયા શું કરે છે?

- બેક્ટેરિયા માછલીને ખોરાકના સ્ત્રોત તરીકે ઉપયોગમાં લે છે અને વિવિધ કચરો પેદા કરે છે, જે એકઠા થાય ત્યારે દુર્ગંધ અને ખરાબ સ્વાદો ઉત્પન્ન કરે છે.
- પોષક તત્ત્વોની શોધમાં, બેક્ટેરિયા સૌથી પહેલાં સરળ સંયોજનોનો ઉપયોગ કરે છે અને અખંડ પ્રોટીનનો ઉપયોગ ફક્ત ત્યારે જ થઈ શકે છે, જ્યારે તેઓ ઓટોલિટીક એન્ઝાઇમ દ્વારા તૂટી ગયા હોય.

  જેમ જેમ તેઓની સંખ્યામાં વધારો થાય છે , તેઓ માછલીની ચામડી અને ગિલ્સ પર જાડા સ્લાઈમનું ઉત્પાદન કરે છે.

- અપ્રિય ગંધ પણ ઉત્પન્ન થાય છે જેમાં ઘણીવાર એમોનિયાની તીવ્ર ગંધ હોય છે.
- માંસ નરમ થઈ જાય છે અને બિન-આંતરડાવાળી માછલીમાં , આંતરડાની દિવાલ આખરે ફૂટે છે.
- બેક્ટેરિયા દ્વારા મૃત પેશીઓના ભંગાણની આ પ્રક્રિયાને પ્યુટ્રિફેક્શન તરીકે ઓળખવામાં આવે છે.

માછલીના રાસાયણિક ઘટકો પર બેક્ટેરિયાની ક્રિયા:

1. એમિનો એસિડનું ડિગ્રેડેશન: ડીકારબોક્સિલેશન અને ડીએમિનેશન

• એમિનો એસિડ્સમાં કાર્બોક્સિલ અને એમિનો જૂથ હોય છે

ડીકાર્બોક્સિલેશન: એન્ઝાઇમ એમિનો એસિડ ડેકાર્બોક્સિલેઝનો ઉપયોગ કરીને એમીનો એસિડમાંથી કાર્બોક્સિલ જૂથને દૂર કરવું એ પ્રાથમિક **એમાઇન** અને કાર્બન ડાયોક્સાઇડ ઉત્પન્ન કરે છે.

• પુટ્રેફાઇંગ ફિશ માંસમાં પ્રાઈમરી એમાઈન્સના સંચયમાં પરિણમે છે.

• ઉદાહરણ: એમિનો એસિડ હિસ્ટિડીનનું હિસ્ટામાઇનમાં, લાઇસિનનું કેડેવરિનમાં રૂપાંતર.

• **સ્કમ્બ્રોઇડ ફિશ પોઇઝનિંગ / હિસ્ટામાઇન પોઇઝનિંગ:** ટુના, મેકરેલ વગેરે જેવી સ્કમબ્રોઇડ માછલીઓના સ્નાયુમાં હિસ્ટિડીનનું પ્રમાણ વધારે છે. હિસ્ટિડીન ડેકાર્બોક્સીલેઝ એન્ઝાઇમ હિસ્ટિડીન પર કાર્ય કરે છે અને હિસ્ટામાઇન ઉત્પન્ન કરે છે, જે ખોરાકના ઝેરનું કારણ બને છે.

ડીએમિનેશન: એમિનો એસિડમાંથી એમિનો જૂથને દૂર કરવું. એમોનિયા એમીનો એસિડ્સના ડિમિનિનેશનનું ઉત્પાદન છે. આ બગડેલી માછલીમાં એમોનિયાની ગંધનું કારણ બને છે.

2. ટ્રાઇમીથાઈલએમાઇન ઓકસાઈડ (TMAO) નો ઘટાડો

- તાજી બોની દરિયાઈ માછલીના સ્નાયુઓમાં 0.1 - 0.5% TMAO હોય છે
- **ટ્રાઇમીથાઈલએમાઇન ઓકસાઈડ** (TMAO) ને **ટ્રાઇમીથાઈલએમાઇન** (TMA) માં રેડયુસ છે
- ટીએમએ દરિયાઈ માછલીની લાક્ષણિક ગંધમાં ફાળો આપે છે.

3. યુરિયા પર ક્રિયા

- ઇલાસ્મોબ્રાન્ચસના માંસમાં યુરિયા બેક્ટેરિયા દ્વારા એમોનિયામાં ફેરવાય છે

4. ચરબીનું સૂક્ષ્મજૈવિક **રેન્સિડીફિકેશન**

- માઇક્રોબિય એન્ઝાઇમ લિપોક્સિડેઝ લિપિડ/ચરબી પર કાર્ય કરે છે અને એલ્ડીહાઇડ્સ અને કીટોન્સની રચનામાં પરિણમે છે.

માછલીઓનો બગાડ અટકાવવા/નિયંત્રણની પદ્ધતિઓ

1. **ખોરાકનું તાપમાન ઘટાડવું**

- તાપમાનમાં ઘટાડા દ્વારા બગાડનું નિયંત્રણ માછલીઓને તાજી રાખવાની સૌથી સામાન્ય અને વ્યવહારિક રીત છે.
- ઉદાહરણ: આઈસિંગ (ચિલિંગ) અને ફ્રીઝિંગ
- તાપમાન જેટલું ઓછું, માછલી બગડવામાં એટલો લાંબો સમય લેશે.

ચિલિંગ/આઈસિંગ (0 ° સે નજીક(0-2° સે) તાપમાન, પરંતુ 0 થી નીચે નહીં):

- માછલીઓને 0 °સે ની શક્ય તેટલું નજીક રાખવામાં આવે છે(પરંતુ નીચે નહીં).
- નીચા તાપમાને, કોષમાં એન્ઝાઇમ્સ તેમના ઈષ્ટતમ પર કાર્ય કરી શકતા નથી અને કારણ કે આખા કોષના ચયાપચય એન્ઝાઇમ્સ પર આધાર રાખે છે, તેથી કોષો વૃદ્ધિ અને વિભાજન ધીમું હોય છે.
- ઠંડક આપતા તાપમાને , ઘણા બેક્ટેરિયા નિષ્ક્રિય થઈ જાય છે , પરંતુ સાયકોફાઇલ્સ/સાયક્રોટ્રોફ્સ વધી શકે છે.
- ખોરાકના સંગ્રહમાં કોઈ ચોક્કસ તાપમાનની અસરકારકતા ઘણા પરિબળો પર આધારીત રહેશે, જેમ કે;
    1. ફ્લોરાનું કેટલું પ્રમાણ સાયકોટ્રોફિક છે
    2. આપેલા તાપમાને સજીવનો વિકાસ દર
    3. માછલીની અગાઉની સારવાર.
- ચિલ્ડ સંગ્રહિત માછલીનું શેલ્ફ લાઇફ 5 થી 15 દિવસ છે
- ચિલિંગને ટૂંકા ગાળાની સ્ટોરેજ પદ્ધતિ તરીકે ગણવામાં આવે છે. જો કે , તે કેટલીક માછલીઓના સંગ્રહ જીવનમાં 14-21 દિવસની વૃદ્ધિ કરી શકે છે.

ફ્રિઝિંગ (0 ° સે થી નીચેનું તાપમાન (0 થી -20 ° સે.)):

- માછલીને સાચવવાની લાંબી અવધિ
- ફ્રિઝિંગ દ્વારા પ્રાપ્ત થાય છે

  કવિક ફ્રિઝિંગ (ઝડપી ઠંડું): જ્યાં તાપમાન 30 મિનિટની અંદર -20 ° સે સુધી ઘટાડવામાં આવે છે.

  સ્લો ફ્રિઝિંગ (ધીમું ઠંડું): જ્યાં તાપમાનને 3 ~ 72 કલાકની અંદર - 20 ° સે સુધી ઘટાડવામાં આવે છે.
- થીજેલું પાણી બરફના સ્ફટિકોમાં ફેરવાય છે અને બેક્ટેરિયલ ક્રિયા માટે ઉપલબ્ધ નથી
- મોટા ભાગના કિસ્સાઓમાં , વૃદ્ધિ સંપૂર્ણપણે બંધ થઈ જાય છે અને પાણીની સ્થિતિમાં પરિવર્તન કોષોના મોટા હિસ્સાનો સારી રીતે નાશ કરી શકે છે.

- મિકેનિકલ નુકસાન , ડિહાઇડ્રેશન, સેલ્યુલર સોલ્યુશનમાં એકાગ્રતા , કોલ્ડ શોક અને મેટાબોલિક ઇજા સહિતના ઘણા પરિબળોને કારણે મૃત્યુ થાય છે.
- ઠંડી કરેલી(ફ્રોઝન) સંગ્રહિત માછલીનું શેલ્ફ જીવન 6 થી 8 મહિના છે

2. વૉટર એક્ટિવિટી /ખોરાકના ભેજનું પ્રમાણ ઘટાડવું

- **સૂકવણી**: બાષ્પીભવન દ્વારા માછલીમાંથી પાણીના નોંધપાત્ર ભાગને દૂર કરવું
- **મીઠું ચડાવવું**: બેક્ટેરિયાના જૈવિક કાર્યો માટે પાણીની ઉપલબ્ધતા ઘટાડે છે
- કોષમાં થતી બધી પ્રતિક્રિયાઓને તેમની યોગ્ય કામગીરી માટે જલીય વાતાવરણની જરૂર હોય છે. આમ , ખાદ્યપદાર્થોમાં ઉપલબ્ધ પાણીની માત્રાને ઘટાડવાથી બેક્ટેરિયાના વિકાસમાં ઘટાડો અથવા સંપૂર્ણ સમાપ્તિ થશે.
- પાણીની માત્રા સામાન્ય રીતે ભેજની ટકાવારી તરીકે નોંધાય છે , પરંતુ, બેક્ટેરિયલ દ્રષ્ટિએ, તે મુક્ત પાણી છે જે મહત્વપૂર્ણ છે.
- માઇક્રોબાયોલોજિસ્ટ્સ પાણીની પ્રવૃત્તિને **વૉટર એક્ટિવિટી (a_w)** તરીકે માપે છે, જે નીચે આપેલા સૂત્રમાંથી લેવામાં આવ્યું છે:
- સંતુલન સંબંધિત ભેજ = 100 a_w
- અહીં એક ટેબલ છે જેમાં લઘુત્તમ a_w નું મૂલ્ય જેમાં સૂક્ષ્મજીવોના જુદા જુદા જૂથો વિકસી શકે છે:

સજીવ	a_w
મોટાભાગના સ્પોઇલેજ બેક્ટેરિયા	0.91
મોટાભાગની સ્પોઇલેજ યીસ્ટ	0.88
મોટાભાગના સ્પોઇલેજ મોલ્ડ	0.80
હેલોફિલિક બેક્ટેરિયા	0.75
ઝેરોફિલિક મોલ્ડ	0.65
ઓસ્મોફિલિક મોલ્ડ	0.60

- ખોરાકની વૉટર એક્ટિવિટી પાણીને દૂર કરવાથી અથવા દ્રાવકના ઉમેરા દ્વારા ઘટાડી શકાય છે, જેનાથી કોષોને પાણી વધુ સમય ઉપલબ્ધ થતું નથી.
- સોડિયમ ક્લોરાઇડ આવા દ્રાવ્ય પદાર્થ છે ; મીઠાના જુદા જુદા સાંદ્રતા માટે મેળવેલ a_w નીચે આપેલા કોષ્ટકમાં આપવામાં આવ્યું છે:

મીઠુંના ટકા w/v	a_w
0.9	0.995
1.7	0.99
3.5	0.98
7.0	0.96
10.0	0.94
13.0	0.92
16.0	0.90
19.0	0.88
22.0	0.86

- તે સ્પષ્ટ છે કે સરેરાશ તાળવા માટે 22 ટકા મીઠું ખૂબ ખારું હોવા છતાં , તે બગાડતા સજીવો, ખાસ કરીને મોલ્ડ અને હેલોફિલિક બેક્ટેરિયા પર સંપૂર્ણ નિયંત્રણ આપતું નથી.
- ખોરાકને ઉત્તમ રક્ષણ પૂરું પાડવા માટે, થોડુંક પાણી કાઢીને મીઠું નાખવું સામાન્ય છે.
- પાણીનું નિવારણ એ ગરમીના સીધા ઉપયોગ દ્વારા થઈ શકે છે , પરંતુ વધુ રસપ્રદ તકનીક એ છે કે ખોરાકનું સ્મોકિંગ કરવું.

3. હીટ પ્રોસેસિંગ/થર્મલ પ્રોસેસિંગ

કેનિંગ:

- ગરમીની સારવાર દ્વારા બેક્ટેરિયા નાશ પામે છે અથવા ખોરાકમાં બેક્ટેરિયાની સંખ્યા ઓછી થાય છે.
- આ પ્રક્રિયા બધા વ્યવહારુ રોગકારક અને બગાડનારા સજીવોને મારી નાખે છે.
- બેક્ટેરિયાની સંખ્યામાં ઘટાડો બગાડનારા ફ્લોરાના વિકાસને ધીમું કરે છે અને બગાડમાં વિલંબ કરે છે.
- વ્યવસાયિક રીતે જંતુરહિત અથવા વ્યાપારી વંધ્યત્વનો ઉપયોગ ઘણીવાર તૈયાર ખોરાક માટે કલ્ચર પદ્ધતિઓ દ્વારા શોધી શકાય તેવા સુક્ષ્મસજીવોની ગેરહાજરીને સૂચવવા માટે કરવામાં આવે છે અથવા બચી ગયેલાઓની સંખ્યા એટલી ઓછી છે કે કેનિંગ અને સ્ટોરેજની સ્થિતિમાં તેમનું કોઈ મહત્વ નથી.
- તૈયાર(કેન્ડ) માછલીનું શેલ્ફ લાઇફ 2 વર્ષ છે.

પાશ્ચરીકરણ

- ગરમીના ઉપયોગ દ્વારા બેક્ટેરિયાના આંશિક વિનાશ.

- પાશ્ચરીકરણ, બધા રોગ પેદા કરનારા સુક્ષ્મસજીવોની નાબૂદી/વિનાશ , અને સંભવિત બગાડ સજીવોને ઘટાડવા માટે , થોડી મિનિટો માટે 60 ~ 80 °સે ની રેન્જમાં ગરમીનો ઉપયોગ કરે છે.
- પાશ્ચરીકરણ
- પાશ્ચરીકરણ પ્રક્રિયા કે જે સામાન્ય રીતે દૂધ જાળવણીમાં કાર્યરત છે તે 30 મિનિટ માટે દૂધને 63°સે પર ગરમ કરીને પ્રાપ્ત કરી શકાય છે , જેને નીચા તાપમાને લાંબા સમય (એલટીએલટી-LTLT) પ્રક્રિયા કહેવામાં આવે છે અથવા 15 સેકંડ માટે 72 °સે જેને ઉચ્ચ તાપમાન ટૂંકા સમય (HTST) પ્રક્રિયા કહેવામાં આવે છે પર ગરમ કરીને પ્રાપ્ત કરી શકાય છે.

4. પર્યાવરણની પીએચ સ્થળાંતર

- બેક્ટેરિયાની વૃદ્ધિ પર્યાવરણના પીએચ સ્થળાંતર દ્વારા પણ સ્થગિત કરી શકાય છે જેથી કોષ ના એન્ઝાઇમ્સ તેમના ઈષ્ટતમ પર કાર્ય કરી શકતા નથી.
- ઉદાહરણો: અથાણાં અને મરીનેડ્સ
- ઘણા બગાડતા સજીવોને નીચી પીએચ એટલી વિરોધી લાગે છે કે તે સંગ્રહ દરમિયાન મૃત્યુ પામે છે.

  નીચે આપેલ કોષ્ટક ન્યૂનતમ અને મહત્તમ પીએચ બતાવે છે જેમા થોડા સામાન્ય જીવ જીવી શકે છે.

જીવ	**ન્યૂનતમ પી.એચ.**	**મહત્તમ પીએચ**
એસ્ચેરીચીયા કોલી	4.4	9.0
સાલ્મોનેલ્લા ટાઇફી	4.5	8.0
સ્ટ્રેપ્ટોકોકસ લેક્ટીસ	4.3-4.8	-
લેક્ટોબેસિલસ પ્રજાતિ	3.8-4.4	7.2
મોલ્ડ	1.5-2.0	11.0
યીસ્ટ	2.5	8.0-8.5

- તે સ્પષ્ટ છે કે માછલીની પેશીઓનું પીએચ 5.6 અથવા તેથી વધુ છે , તેથી લગભગ કોઈ પણ સુક્ષ્મસજીવો તેના પર વિકસી શકે છે અને બગાડી શકે છે.
- કેટલાક બેક્ટેરિયા, ખાસ કરીને લેક્ટોબેસિલસ પ્રજાતિ, પીએચને તે સ્તર સુધી ઘટાડવાની ક્ષમતા ધરાવે છે જ્યાં સામાન્ય બગાડના ફ્લોરાને અટકાવવામાં આવે છે ; સામાન્ય પદ્ધતિ એ સબસ્ટ્રેટ અથવા ખોરાકમાંના કાર્બોહાઇડ્રેટમાંથી લેક્ટિક એસિડનું ઉત્પાદન છે. દક્ષિણ પૂર્વ એશિયાના ઘણા પરંપરાગત આથાવાળા ખોરાક ની લાંબી શેલ્ફ લાઈફ એ આ મિકેનિઝમ ને આભારી છે.

5. વિકિરણ(રેડિયેશન)નો ઉપયોગ

- સુક્ષ્મસજીવો પરના વિનાશક પ્રભાવને કારણે , ખોરાકના બચાવમાં વિકિરણની સંભવિત એપ્લિકેશન હોય છે.
- સામાન્ય રીતે, ટૂંકી તરંગલંબાઇના કિરણોત્સર્ગ લાંબા તરંગ લંબાઈ કરતા સુક્ષ્મસજીવોને વધુ નુકસાનકારક છે.
- ખોરાકની જાળવણીમાં આયોનાઈઝીંગ કિરણોત્સર્ગની 2000A^0 અથવા તેથી વધુની તરંગલંબાઇ મહત્વપૂર્ણ છે.
- આમાં બીટા કિરણો, ગામા કિરણો અને એક્સ-રે શામેલ છે.
- આયોનાઈઝીંગ કિરણોત્સર્ગ તેમના માર્ગ પર પરમાણુઓને આયોનાઈઝ કરે છે અને આ રીતે તાપમાનમાં વધારો કર્યા વિના સુક્ષ્મસજીવોનો નાશ કરે છે.
- તાપમાનમાં વધારો કર્યા વિના વિદ્યુતચુંબકીય વિકિરણોનો ઉપયોગ કરી ખોરાકમાં સુક્ષ્મસજીવોની હત્યાને **કોલ્ડ સ્ટરીલાઇઝેશન** તરીકે ઓળખવામાં આવે છે.
- **રેડિયેશન પ્રક્રિયા**: ખોરાકને આપવામાં આવતી રેડિયેશન પ્રક્રિયા 3 પ્રકારની હોય છે.
  - રેડેપરટાઇઝેશન
  - રેડિસિડેશન
  - રેડ્યુરાઇઝેશન

6. રસાયણોનો ઉપયોગ

- સુક્ષ્મસજીવો દ્વારા થતાં ખોરાકને બગડતા અટકાવવા/વિલંબ કરવાની ક્ષમતાને લીધે મોટી સંખ્યામાં રસાયણો ફૂડ પ્રિઝર્વેટિવ્સની સંભાવના ધરાવે છે અને આ રીતે ખોરાકની શેલ્ફ લાઇફ લંબાવે છે.
- ઘણા રાસાયણિક પદાર્થોમાં થી માત્ર કેટલાકને જ ફૂડ પ્રોડક્ટ્સમાં ઉપયોગ કરવાની મંજૂરી આપવામાં આવે છે કારણ કે અમલીકરણ એજન્સીઓ દ્વારા સલામતીના કડક નિયમો અને જ્યારે અમુક ખોરાકમાં સમાવિષ્ટ કરવામાં આવે છે ત્યારે થતા એન્ટિસૂક્ષ્મજૈવિક પ્રોપર્ટીમાં ફેરફાર ના કારણે
- પ્રિઝર્વેટિવ અસર ધરાવતા કેટલાક રસાયણોનો ઉપયોગ ખોરાકમાં કરવાની મંજૂરી છે અને સામાન્ય રીતે સલામત (GRAS) તરીકે માન્યતા આપવામાં આવે છે.
  - બેન્ઝોઇક એસિડ અને પેરાબેન્સ
  - સોર્બિક એસિડ અને સોર્બેટ્સ
  - પ્રોપીયોનેટ્સ
  - સલ્ફર ડાયોક્સાઇડ અને સલ્ફાઇટ્સ
  - નાઇટ્રાઇટ્સ અને નાઇટ્રેટ્સ

ગુડ પ્રેક્ટિસ(સારી પ્રથાઓ)

- જુદા જુદા સમયે પકડાયેલી અલગ માછલી , બગાડવાની જુદી જુદી સ્થિતિમાં હશે. જૂની માછલીઓ તેથી તાજી ને દૂષિત કરશે, જો તેઓ અલગ ન હોય તો.
- મોટી માછલીથી નાની માછલીઓ અલગ કરો નાની માછલીઓ મોટી માછલી કરતા વધુ ઝડપથી બગાડે છે.
- "નરમ પેટ" વાડી માછલી ને અલગ કરો. 'નરમ પેટ' માછલી બગાડવાનું સંકેત છે. તેથી , આ માછલીઓ અન્ય કરતા વધુ ઝડપથી બગડશે. જો, પેટ ફાટી જાય તો આંતરડાથી દૂષિત થવાનું જોખમ રહેલું છે.
- આંતરડા અને માછલી અલગ કરો. અલબત્ત, આંતરડામાં મોટા પ્રમાણમાં બેક્ટેરિયા અને ઉત્સેચકો હોય છે જે બગાડનું કારણ બને છે. તેથી , તેઓને માછલીથી અલગ રાખવું આવશ્યક છે.
- માછલીના વિતરણ માટે સ્વચ્છ, પ્લાસ્ટિક બોક્સનો ઉપયોગ કરો.
- વિતરણ પછી માછલીના બોક્સમાં બાકી રહેલ બરફનો ફરીથી ઉપયોગ કરશો નહીં.
- માછલી સીધી જમીન પર ના મુકો.
- વિતરણ અથવા સંગ્રહ દરમિયાન માછલીની વિવિધ જાતોમાં ભળવું નહીં.

માછલી વેપારીઓ અને પ્રોસેસરો માટે સારી હેન્ડલિંગ માર્ગદર્શિકા

- શ્રેષ્ઠ ગુણવત્તાવાળી માછલી ખરીદો.
- બજારમાં અથવા તમારા પરિસરમાં આજુબાજુ પડેલી માછલીઓના બોક્સછોડશો નહીં. તેમને ઝડપથી દૂર કરો અને તેમને ઠંડા રાખો.
- ખાતરી કરો કે બધી સપાટી અને ઉપકરણો સ્વચ્છ અને આરોગ્યપ્રદ રાખવામાં આવ્યા છે.
- માછલી પર ચાલશો નહીં અથવા ફેંકો નહિ; તેમને નરમાશથી હેન્ડલ કરો.
- કલંક ન આવે તે માટે વિવિધ પ્રકારની માછલીઓ અલગ કરો.
- માછલીને ઠંડુ કરવા માટે ચિલ સ્ટોર્સનો ઉપયોગ કરશો નહીં. તેઓ આ માટે રચાયેલ નથી અને બરફ તે કામ વધુ સારું કરે છે.
- આગામી વિતરણ તબક્કામાં માછલી ઝડપથી ખસેડવામાં આવે છે તેની ખાતરી કરવા માટે ફર્સ્ટ ઈન ફર્સ્ટ આઉટ પોલિસીમાં ઓપરેટ કરીને યોગ્ય રીતે સ્ટોક ફેરવો.
- ફિશ વર્કિંગ એરિયા નજીક કચરો અને ઓફલ સ્ટોર કરશો નહીં. આ માખીઓને પ્રોત્સાહિત કરશે જે રોગને વહન કરી શકે છે અને માછલી પર બગ્સ રજૂ કરી શકે છે.
- ખાતરી કરો કે રવાનગી પહેલાં માછલી પર્યાપ્ત રીતે બરફવાળી છે.
- બોક્સ એવી રીતે નહીં ભરો કે માછલી કચડાઈ જાય.

સંદર્ભ

1. કે.કે. બાલચંદ્રન. 2001. બેક્ટેરિયોલોજી. માછલી અને માછલીના ઉત્પાદનોની લણણી પછીની તકનીક. દયા પબ્લિશિંગ હાઉસ, દિલ્હી. પૃ. 29-57.

2. ઉષ્ણકટિબંધીય માછલીઓનું નિયંત્રણ , જાળવણી અને પ્રક્રિયા: ભાગ 2 (આઇ. જે. ક્લુકાસ દ્વારા સંકલિત) 1982. ઉષ્ણકટિબંધીય વિકાસ અને સંશોધન સંસ્થા, લંડન દ્વારા પ્રકાશિત.

****

જાહેર આરોગ્ય માઇક્રોબાયોલોજી

રેણુકા વી.

બેક્ટેરિયા જે માનવીમાં બીમારીનું કારણ બની શકે છે તે રોગકારક બેક્ટેરિયા માનવામાં આવે છે. માછલીમાં વધારે સૂક્ષ્મજૈવિક લોડ મુખ્યત્વે ગિલ્સ , **આંતરડા** અને ત્વચામાં જોવા મળે છે. માછલી સાથે સંકળાયેલા મોટાભાગના બેક્ટેરિયા રોગકારક નથી. જ્યારે માછલી અથવા શેલફિશની ખેતી કરવામાં આવે છે ત્યારે પેથોજેન્સ નીચા સ્તરે હાજર હોઈ શકે છે , અને અન્ય લોકો હેન્ડલિંગ અને પ્રક્રિયા દરમિયાન અથવા બિનસલાહભર્યા વ્યવહાર દ્વારા રજૂ થઈ શકે છે.

ખોરાકજન્ય જીવાણુઓ જળચર વાતાવરણ , સામાન્ય વાતાવરણ અથવા પ્રાણી/માનવ ભંડાર (કોષ્ટક 1) માંથી ઉત્પન્ન થઈ શકે છે. માછલીની લણણી દરમિયાન , સ્વદેશી જળચર બેક્ટેરિયા અને સામાન્ય વાતાવરણના બેક્ટેરિયા ગ્રાહકોને ખોરાકની બીમારીનું કારણ બની શકે છે. જ્યારે, હેન્ડલિંગ અને પ્રોસેસિંગ દરમિયાન, સામાન્ય વાતાવરણમાંથી અથવા પ્રાણી/માનવ ભંડારમાંથી બેક્ટેરિયા ખોરાકને લીધે થતી બીમારીનું કારણ બની શકે છે. ખોરાક દ્વારા થતી બીમારીને 2 જુદા જુદા જૂથોમાં વર્ગીકૃત કરવામાં આવે છે.

1. ચેપ (જીવંત પેથોજેનિક સજીવનું ઇન્જેશન)
2. નશો (ખોરાકમાં સુક્ષ્મસજીવો દ્વારા ઉત્પાદિત ઝેરનું ઇન્જેશન)

ચેપ બેક્ટેરિયા, વાયરસ અથવા પરોપજીવી કારણે હોઈ શકે છે.

કોષ્ટક 1: ખોરાકજન્ય રોગકારક જીવાણુઓ અને તેમના પર્યાવરણ

જળચર વાતાવરણ	**સામાન્ય વાતાવરણ**	**પ્રાણી / માનવ ભંડાર**
ક્લોસ્ટ્રિડિયમ બોટ્યુલિનમ બિન-પ્રોટીઓલિટીક પ્રકારો બી, ઇ, એફ	ક્લોસ્ટ્રિડિયમ બોટ્યુલિનમ પ્રોટીઓલિટીક પ્રકાર એ, બી	સાલ્મોનેલા એન્ટરિકા
વિબ્રિઓ કોલેરા સેરોવર O1 અને O139	ક્લોસ્ટ્રિડિયમ પરફ્રિન્જન્સ પ્રકાર એ	શિગેલા પ્રજાતિ
વિબ્રિઓ હેમોલાયટિક્સ	લીસ્ટેરીયા મોનોસાયટોજેન્સ	પેથોજેનિક એસ્ચેરીચીયા કોલી (EPEC,ETEC,EAEC, EIEC)
	બેસિલસ સેરીઅસ	કેમ્પાયલોબેક્ટર પ્રજાતિ

1. **બેક્ટેરિયલ ચેપ**

એ) *લીસ્ટેરીયા મોનોસાયટોજેન્સ*

લીસ્ટેરીયા મોનોસાયટોજેન્સ એ ગ્રામ- પોઝિટિવ, ગતિશીલ બેક્ટેરિયા છે. તે લીસ્ટરિઓસિસ નામનો દુર્લભ, પરંતુ જીવન માટે જોખમી, ખોરાક દ્વારા જન્મતા રોગનું કારણ બને છે.

બી) *વિબ્રિઓ* પ્રજાતિ

વિબ્રિઓ પ્રજાતિ ગ્રામ-નેગેટિવ બેક્ટેરિયા છે. વિબ્રિઓ પ્રજાતિ. ની *80* પ્રજાતિઓમાંથી. *12* માનવીય પેથોજેન્સ તરીકે નોંધાયેલ છે હતા. વિબ્રિઓ પેરાહિમોલાયટિક્સ, વી. વલ્નિફિકસ અને વી. કોલેરા એ સીફૂડથી જન્મેલી બીમારીની મુખ્ય જાતિ છે. આમાંથી , વી પેરાહિમોલાયટિક્સ અને વી. કોલેરા જઠરાંત્રિય રોગનું કારણ બને છે , જ્યારે વી. વલ્નિફિકસ સેપ્ટીસેમિયાનું કારણ બને છે.

સી) *સાલ્મોનેલ્લા*

સાલ્મોનેલ્લા એ ગ્રામ-નેગેટિવ બેક્ટેરિયા છે. *સાલ્મો*નેલ્લાથી માનવીય ચેપ ઘણી ક્લિનિકલ સ્થિતિઓ તરફ દોરી શકે છે જેમ કે ટાઇફોઇડ ફીવર (*એંટરિક* ફીવર) , એક્યુટ ગેસ્ટ્રોએન્ટેરાઇટિસ અથવા સિસ્ટમેટિક *નોન*-ટાઇફાઇડ ચેપ. ટાઇફાઇડ તાવ એસ ટાઇફી અને એસ. પેરાટાઇફી દ્વારા થાય છે.

***ડી) ક્લોસ્ટ્રિડિયમ* પ્રજાતિ**

ક્લોસ્ટ્રિડિયમ પ્રજાતિ *ગ્રામ-* પોઝિટિવ, *બીજકણ રચતા બેક્ટેરિયા છે. તે ન્યુરોટોક્સિન ઉત્પન્ન કરે છે. સી. બોટ્યુલિનમનાં 3 જૂથો માન્ય છે:*

- જૂથ I - પ્રોટીઓલિટીક બોટ્યુલિનમ ઝેરના પ્રકારો એ, બી અને એફ
- જૂથ II - બિન-પ્રોટીઓલિટીક બોટ્યુલિનમ ઝેરના પ્રકારો બી, ઇ અને એફ
- જૂથ III - બોટ્યુલિનમ ઝેર પ્રકારનાં સી અને ડી

***ઇ)* ઇ. કોલી**

ઇ. કોલી એ ગ્રામ-નેગેટિવ બેક્ટેરિયા છે. બધા ઇ. કોલી રોગકારક નથી અને માત્ર થોડા જ પેથોજેનિક ઇ. કોલી મુખ્યત્વે જઠરાંત્રિય બિમારીના ક્લિનિકલ સિન્ડ્રોમ સાથે સંકળાયેલા છે. ક્લિનિકલ સિન્ડ્રોમ્સ અને વિર્યુલન્સ ગુણધર્મોને આધારે , ડાયેરિએજેનિક ઇ . કોલીને વર્ગીકૃત કરવામાં *આવે છે:* એન્ટરોપેથોજેનિક ઇ . કોલી (ઇપીઇસી) , એન્ટરોટોક્સિજેનિક ઇ . કોલી

(ઇટીઇસી), એન્ટરોહેમરેજિક ઇ. કોલી (ઇએચઇસી) , એન્ટરો*ઇન્વે*સીવ ઇ. કોલી (ઇઆઈઇસી) , એન્ટરો*એગ્રીગેટિવ* ઇ. કોલી (ઇએઇઇસી) અને ફેલાવો-પાલન કરતા ઇ. કોલી (ડીએઇસી).

એફ) *સ્ટેફાયલોકોકસ ઓરિયસ*

સ્ટેફાયલોકોકસ ઓરિયસ એ એક ગ્રામ- પોઝિટિવ, *બેક્ટેરિયા છે. તે એંટોરોટોક્સિન ઉત્પન્ન કરે છે અને ખોરાક દ્વારા નશો કરે છે. રોગ પેદા કરતા ઝેરના સ્તર ત્યારે જ થાય છે જ્યારે એસ. ઓરિયસ ની વ્યાપક વૃદ્ધિ થાય છે, સામાન્ય રીતે ખોરાકમાં* $\geq 10^6 cfu/g$ *ના સ્તરે.*

જી) *એરોમોનાસ અને પ્લેસીઓમોનાસ*

એરોમોનાસ એ ગ્રામ-નેગેટિવ ફેકલ્ટેટીવ એનારોબિક બેક્ટેરિયા છે. પ્લેસી *ઓ*મોનાસ યાત્રીઓના અતિસાર સાથે સંકળાયેલ છે. હાલમાં , એરોમોનાસ જીનસ હેઠળ 24 માન્ય રીતે પ્રકાશિત પ્રજાતિઓ છે જેમાં 11 ખોરાકની જઠરાંત્રિય બિમારી જેવી ખોરાક દ્વારા જન્મેલ બીમારી માટે જવાબદાર છે.

2. **વાયરલ ચેપ**

ખોરાક દ્વારા થતા વાયરસ માનવ જઠરાંત્રિય માર્ગમાંથી લેવામાં આવે છે , અને પાણી અને ખોરાકમાં તેમની હાજરી ગટર, દૂષિત સ્વચ્છતા અથવા અન્ન સંભાળનારાઓ દ્વારા દૂષણનું પરિણામ છે. ખોરાક દ્વારા થતી બીમારીના વાયરસનો ઉલ્લેખ કોષ્ટક 2 માં કરવામાં આવ્યો છે.

કોષ્ટક **2:** ખોરાક દ્વારા જન્મેલા વાયરસ

વાયરસનું નામ	**રોગ/લક્ષણો**
નોરોવાયરસ	રોગચાળો ગેસ્ટ્રોએન્ટેરાઇટિસ
એસ્ટ્રોવાયરસ	ગેસ્ટ્રોએન્ટેરાઇટિસ
હીપેટાઇટિસ એ વાયરસ	યકૃત બળતરા; હીપેટાઇટિસ
એન્ટરોવાયરસ (દા.ત. પોલિયોવાયરસ, કોક્સસેકી એ, બી)	પોલીયોમેલિટિસ, મેનિન્જાઇટિસ,
રોટાવાયરસ	એન્સેફાલીટીસ
એડેનોવાયરસ	ગેસ્ટ્રોએન્ટેરાઇટિસ

3. **પરોપજીવી ચેપ**

માછલીથી જન્મેલા ઝૂનોટિક પરોપજીવીઓ વિશ્વના ઘણા પ્રદેશોમાં પ્રચલિત છે અને મનુષ્યને ચેપ લગાવેલા તમામ ઝૂનોટિક પરોપજીવોમાં સૌથી મહત્વપૂર્ણ છે. માછલીથી જન્મેલા પરોપજીવીઓ મુખ્યત્વે હેલ્મિન્થ હોય છે , અને તેમાં નેમાટોડ્સ (રાઉન્ડ વોર્મ્સ) , સેસ્ટોડ્સ (ટેપવોર્મ્સ) અને ટ્રેમાટોડ્સ (ફ્લુક્સ) ની પ્રજાતિઓ શામેલ હોય છે.

****

સીફૂડ ની ગુણવત્તા પર હેન્ડલિંગ, પ્રોસેસીંગ, સ્ટોરેજ અને લોજિસ્ટિક્સની અસર

રેણુકા. વી

પરિચય

માછલીઓનું સ્પોઇલેજ જે માછલીમાં ઓર્ગેનોલેપ્ટીકલી રીતે શોધી શકાય છે તે પ્રોટીનના ભંગાણને કારણે છે, અને સુક્ષ્મસજીવોની વૃદ્ધિથી મેટાબોલાઇટ્સના નિર્માણનું પરિણામ પણ છે. માછલી પકડ્યા પછી તરત જ બગાડવાનું શરૂ કરે છે અને સીફૂડ જ્યારે કાચી હોય ત્યારે ખુબ જ જલ્દી થી બગડે છે. મહત્તમ મૂલ્ય મેળવવા માટે માછલીની તાજગી જાળવી રાખવી જોઈએ. માછલીઓની ત્વચા પર હાજર બગાડ બેક્ટેરિયા સ્નાયુ પેશીઓ પર આક્રમણ કરવાનું શરૂ કરે છે. સમય જતાં , માછલીઓનો રંગ, સ્વાદ અને ગંધ બદલાઈ જાય છે અને માછલીની ગુણવત્તા બગડે છે જો યોગ્ય રીતે સચવાય નહીં તો વહેલા કે પછી તે વપરાશ માટે અયોગ્ય બનશે.

બેક્ટેરિયા અને ઉત્સેચકો એ માછલીઓના બગાડના મુખ્ય કારણો છે. ઉચ્ચ સૂક્ષ્મજૈવિક લોડ મુખ્યત્વે ગિલ્સ, આંતરડા અને ત્વચામાં જોવા મળે છે. માછલીના પેટમાં ઉત્સેચકો હાજર છે. માછલીને નીચા તાપમાને રાખવી (0 °સે) જે બગાડનારા બેક્ટેરિયા ની વૃદ્ધિ ધીમી કરી શકે છે અને હાઈજેનિક હેન્ડલિંગ તે સીફૂડ બગાડ ઘટાડવાની મૂળભૂત આવશ્યકતાઓ છે.

સૂક્ષ્મજૈવિક ગુણવત્તાના બગાડને ઘટાડવા માટે લણણીની પદ્ધતિઓ

આઈસિંગ

આઈસિંગ માછલીની જાળવણી માટેની એક સરળ , આર્થિક અને અસરકારક પદ્ધતિ છે. ભારતમાં વિવિધ પ્રકારના બરફ જેવા કે બ્લોક આઈસ , ફ્લેક આઇસ, ટ્યુબ આઇસ અને ડ્રાય આઇસ ઉપયોગ માં લેવાય છે. બ્લોક આઈસ ભારતમાં માછલી બચાવવા માટે સામાન્ય રીતે ઉપયોગમાં લેવામાં આવતી બરફ છે. માછલીની સપાટી સાથે વધુ સારા સંપર્ક માટે બરફના બ્લોકને નાના ટુકડાઓમાં કચડી નાખવામાં આવે છે. માછલીઓની સૂક્ષ્મજૈવિક ગુણવત્તાના બગાડને ઘટાડવા માટે નીચેના મુદ્દાઓ યાદ રાખવા જોઈએ

- માછલીને નીચા તાપમાને (0 °સે) રાખવા અને કાર્યક્ષમ જાળવણી માટે એક કિલો માછલીને એલ કિલો બરફની જરૂર પડે છે
- શુદ્ધ પીવાલાયક પાણીનો ઉપયોગ બરફ બનાવવા માટે થવો જોઈએ
- હિમસ્તરના કારણે માછલીઓને થતા શારીરિક નુકસાનથી બચવા માટે કાળજી લેવી જોઈએ
- માછલીના સંગ્રહ માટે વપરાતા બોક્સ વધારે ભરવા ન જોઈએ
- સપાટીનો સંપર્ક વધારવા માટે બરફ અને માછલીને વૈકલ્પિક સ્તરોમાં મૂકવી જોઈએ

ઓન બોર્ડ હેન્ડલિંગ પ્રેક્ટિસ

સૂક્ષ્મજૈવિક બગાડ ઘટાડવા માટે કદની ગ્રેડિંગ અને પ્રજાતિઓનું વિભાજન અને કેચ ધોવા એ મુખ્ય ભૂમિકા ભજવશે. ભારતમાં મોટાભાગની ફિશિંગ જહાજો ટ્રોલર્સ , ગિલ્નેટરો અને લાંબી લાઇનર્સ છે અને માછલી પકડવાના તમામ મોટા જહાજોમાં ફિશ હોલ્ડ હાજર છે. તાજી પકડેલી માછલીઓ ફિશ હોલ્ડમાં સામાન્ય રીતે પ્લાસ્ટિકના ઇન્સ્યુલેટેડ કન્ટેનરમાં સંગ્રહિત કરવામાં આવે છે. માછલીના યોગ્ય સંગ્રહ માટે જરૂરી માત્રામાં બરફનો ઉપયોગ કરવો ખૂબ જ મહત્વપૂર્ણ છે.

નબળી વ્યક્તિગત સ્વચ્છતા એ સૂક્ષ્મજૈવિક દૂષણના સામાન્ય કારણોમાંનું એક છે. માછલીનું સંચાલન, પકડવાની , હેન્ડલિંગ, પ્રક્રિયા કરવા , પરિવહન અને વેચાણ દરમિયાન કરવામાં આવે છે. સારી આરોગ્યપ્રદ પદ્ધતિઓનું અનુકૂલન , સૂક્ષ્મજૈવિક દૂષણનું જોખમ ઘટાડે છે. ફિશ હેન્ડલર્સ ગુણવત્તાની નિયમન પ્રક્રિયા અને ખોરાક સલામતીના મુદ્દાઓ વિશે જાગૃત હોવા જોઈએ. ફિશ હેન્ડલર્સને નબળી વ્યક્તિગત સ્વચ્છતા અને રોગને લગતા બેક્ટેરિયા સાથે માછલીની દૂષણ વચ્ચેની કડી સમજવી જોઈએ. માછલીઓ દૂષિત ન થાય તે માટે લઈ શકાય તેવા વ્યક્તિગત સ્વચ્છતાનાં પગલાં પણ તેઓને જાણવા જોઈએ.

કોષ્ટક 1: તાજી સીફૂડ સાંકળમાં હાથ ધરવામાં આવતી પ્રક્રિયા

ફ્રેડરિકસેન (2002) થી દત્તક લીધેલ

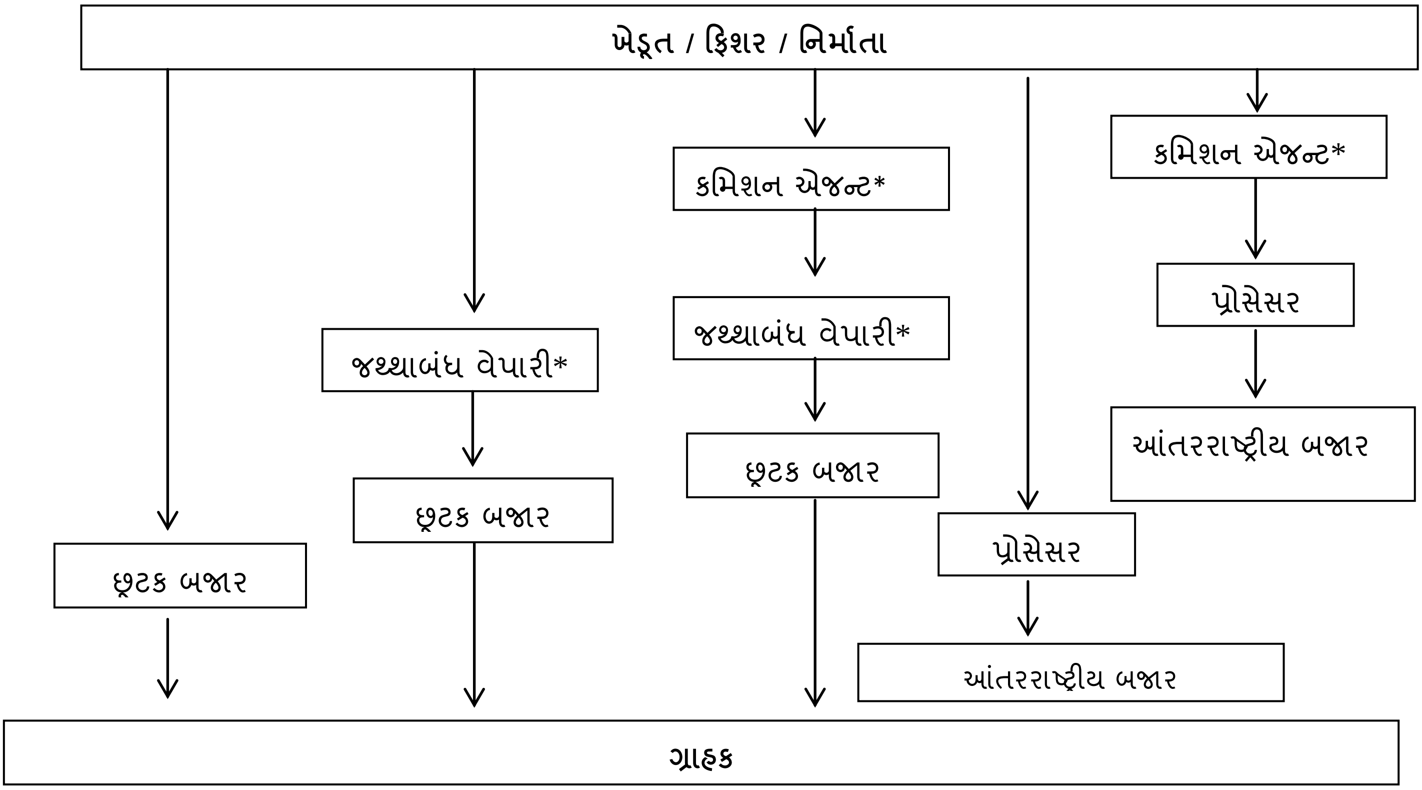
પગલું	હાથ ધરવામાં આવતી પ્રક્રિયા
તાજી માછલી પકડવા માટે મત્સ્યઉદ્યોગ જહાજો	ધોવા, જાતિઓમાં અલગ કરો, કદ ગ્રેડ, વજન, આઇસપેક, સંગ્રહ અને અનલોડ કરો
કલેક્ટર્સ	પ્રજાતિઓ ગ્રેડ, કદ ગ્રેડ, હિમસ્તરની, સંગ્રહ અને હરાજીમાં લાવો
હરાજી	સંગ્રહ અને હરાજી (વેચાણ)
જથ્થાબંધ વેપારી/પ્રોસેસરો	કદ ગ્રેડ, પ્રક્રિયા, વજન, આઇસપેક, સંગ્રહ અને વેચો. માછલીની સપ્લાય ચેનમાં હોલસેલરો / પ્રોસેસરોનાં એક અથવા અનેક પગલાં હોઈ શકે છે.
પરિવહન કંપનીઓ	લોડ, સંગ્રહ અને અનલોડ કરો
રિટેલરો/બજારો	પ્રક્રિયા, વજન, આઇસપેક, સંગ્રહ અને વેચો

પરિવહન અને સંગ્રહ પદ્ધતિઓ

સીફૂડ ઉદ્યોગમાં શીત સાંકળ અંતિમ ઉત્પાદનની ખાવાની ગુણવત્તા નક્કી કરે છે. એકવાર માછલી પકડાય પછી શીત સાંકળ પ્રક્રિયા શરૂ થાય છે. આંતરરાષ્ટ્રીય , રાષ્ટ્રીય અને ખાદ્ય સલામતીના નિયમો મુજબ સીફૂડ દરિયામાંથી ઉપભોક્તા સુધી 0 °સે એ સંગ્રહ કરવો

જોઈએ. શીત સાંકળ પ્રક્રિયામાં થતી વધઘટ ગુણવત્તાને અસર કરે છે, જે ઘટના પછી કોઈ પણ રીતે બદલી શકાતી નથી. પરંપરાગત રીતે, ભારતીય સીફૂડ પ્રક્રિયા ગ્રાહકો સુધી પહોંચવા માટે લાંબી માર્કેટિંગ ચેનલનું પાલન કરે છે. ત્યાં ઘણી ટાળી શકાય તેવી અને અનિવાર્ય ઘટનાઓ છે જે શીત સાંકળમાં વધઘટનું કારણ બને છે.

સીફૂડની ગુણવત્તા જાળવવા અને સૂક્ષ્મજૈવિક દૂષણને ઘટાડવા માટેની શ્રેષ્ઠ પ્રથા એ સીફૂડ પ્રોસેસિંગના દરેક પગલામાં સારા આરોગ્યપ્રદ હેન્ડલિંગ અને ઉત્પાદનનું તાપમાન ઓછું જળવાય એ રીતે કરવામાં આવે છે.



આકૃતિ 1: ભારતના માછલી ઉદ્યોગમાં તાજા અને સ્થિર ઉત્પાદનો માટે સીફૂડ સાંકળ

કમિશન એજન્ટ અને જથ્થાબંધ વેપારીઓની સંખ્યા બજારના ભાવ અને સ્થળ પર આધારિત છે

પ્રોસેસીંગ ફેક્ટરીઓમાં આ હોવું જોઈએ:

- સ્વચ્છતા હાંસલ કરવા માટે યોગ્ય ઇન્ફ્રાસ્ટ્રક્ચર
- યોગ્ય લાઇટિંગ અને વેન્ટિલેશન
- પાણીનો પુરવઠો
- પ્રક્રિયા માટે **2** પીપીએમ કરતા ઓછા અવશેષ સ્તર સાથે ક્લોરીનયુક્ત પાણી
- ફિશ હેન્ડલિંગ માટેનાં વાસણો
- વાસણો અને ખાદ્ય સંપર્કની સપાટીને **100** પીપીએમવાળા ક્લોરીનયુક્ત પાણી થી ધોવા

- કામદારો ની સ્વચ્છતા અને આરોગ્યની સ્થિતિ
- રોડેન્ટ્સમાટે નિયંત્રણ પગલાં
- માખીઓ માટે નિયંત્રણ પગલાં
- કચરો નિકાલ કરવાની યોગ્ય પ્રક્રિયા
- શૌચાલયની યોગ્ય સુવિધા

સંદર્ભ

ફ્રેડરિકસેન, એમ. (2002) માછલી પ્રક્રિયામાં ગુણવત્તાયુક્ત સાંકળ સંચાલન. ભાગ III - સપ્લાય ચેઇનની અંદર ગુણવત્તામાં સુધારો. ચેપ 15. ઇનઃ બ્રેમર, એચ.એ. (સંપાદન), માછલી પ્રક્રિયામાં સલામતી અને ગુણવત્તાની સમસ્યાઓ. કેમ્બ્રિજ (ઇંગ્લેંડ): વુડહેડ પબ્લિશિંગ લિમિટેડ અને સીઆરસી પ્રેસ એલએલસી, 520 પી.

એલેક્સ ઓગસ્ટો ગોનકેલ્વ્સ, એ.એ અને ફ્રાન્સિસ્કો બ્લેહા , એફ. (2003) સીફૂડ ઉદ્યોગમાં શીત સાંકળ.

****

એચએસીસીપી અને સીફૂડની સૂક્ષ્મજૈવિક ગુણવત્તાનું અમલીકરણ

રેણુકા વી.

એચએસીસીપી જોખમોને રોકવા અને ખાદ્ય સુરક્ષા અને ગ્રાહક સુરક્ષાની ખાતરી કરવા માટે સીફૂડ ઉદ્યોગમાં અમલમાં મૂકવામાં આવે છે. એચએસીસીપી એ ફૂડ સેફ્ટી મેનેજમેન્ટ સિસ્ટમનો અભિન્ન ભાગ છે. એચએસીસીપી એ પ્રતિક્રિયાશીલને બદલે જોખમ નિયંત્રણની નિવારણ પ્રણાલી છે. ખાદ્ય પ્રોસેસર્સ તેનો ઉપયોગ ગ્રાહકો માટે સલામત ખોરાક ઉત્પાદનોની ખાતરી કરવા માટે કરી શકે છે. એચએસીસીપી એકલ પ્રોગ્રામ નથી , પરંતુ નિયંત્રણ પ્રક્રિયાઓની વિશાળ સિસ્ટમનો ભાગ છે.

એચએસીસીપી સિસ્ટમ જ્યારે સીફૂડ સ્થાપના દ્વારા કાચા માલ પ્રાપ્ત થવાથી ઉત્પાદન થી ગ્રાહક સુધીના વિતરણ સુધી ખોરાકની સાથે સંકળાયેલ ખોરાક સલામતીના જોખમોને રોકવા અને નિયંત્રિત કરવા માટે રચાયેલ છે. એચએસીસીપી સિસ્ટમ વર્તમાન ગુડ મેન્યુફેક્ચરીંગ પ્રેક્ટિસિસ (જી.એમ.પી.) અને સેનિટેશન કંટ્રોલ પ્રોસીજર્સ (એસસીપી) ના મક્કમ પાયા પર બાંધવી આવશ્યક છે. જીએમપીઝ અને સેનિટેશન સ્ટાન્ડર્ડ ઓપરેટિંગ પ્રક્રિયાઓ (એસએસઓપી) પ્રક્રિયાના વાતાવરણને અસર કરે છે અને એચએસીસીપીને પૂર્વ આવશ્યક કાર્યક્રમો માનવી જોઈએ.

એચ.એ.સી.સી.પી. સિસ્ટમ વિકસિત કરવાની પ્રાથમિક બાબત એ મેનેજમેન્ટની પ્રતિબદ્ધતા છે. પ્રોપ્રાઇટર અથવા ડિરેક્ટર જેવા ઉચ્ચ કંપની અધિકારીઓનો ટેકો મેળવવો ખૂબ જ મહત્વપૂર્ણ છે , જેના વિના એચએસીસીપી કંપનીની અગ્રતા નહીં બને. એચએસીસીપીના અસરકારક અમલીકરણ માટે પૂરતા પ્રમાણમાં પ્રશિક્ષિત વર્ક ફોર્સની ઉપલબ્ધતા પણ સુનિશ્ચિત કરવાની છે. એચ.એ.સી.સી.પી. ને વારંવાર તેના 7 મૂળ સિદ્ધાંતોની દ્રષ્ટિએ વિચારવામાં આવે છે. એચએસીસીપી ના 7 સિદ્ધાંતો ની અરજી સાથે એચએસીસીપીયોજનાઓની તૈયારી કરતા પહેલા, 5 પ્રારંભિક પગલાઓને પણ ધ્યાન આપવું જરૂરી છે. સીફૂડ સ્થાપના માટે એચએસીસીપીના અસરકારક અમલીકરણમાં સામેલ પગલાં નીચે મુજબ છે

એચએસીસીપીના વિકાસમાં પ્રારંભિક પગલાં

1. એચએસીસીપી ટીમને ભેગી કરો
2. ઉત્પાદનનું વર્ણન કરો
3. ગ્રાહકના ઉપયોગના હેતુ અંગેનું વર્ણન
4. શિપિંગમાં પ્રાપ્ત થતી કાચી સામગ્રીમાંથી પ્રક્રિયાના પ્રવાહની આકૃતિ

5. પ્રક્રિયા પ્રવાહની ચકાસણી

એચએસીસીપી સિદ્ધાંતો

1. જોખમ નું વિશ્લેષણ કરો
2. જટિલ નિયંત્રણ બિંદુઓ નક્કી કરો (સીસીપી)
3. જટિલ મર્યાદા (સીએલ) નક્કી કરો
4. મોનિટરિંગ પ્રક્રિયા સ્થાપિત કરો
5. સુધારાત્મક ક્રિયાઓની કાર્યવાહી સ્થાપિત કરો
6. ચકાસણી અને માન્યતા
7. સારા રેકોર્ડ રાખવા માટે સ્થાપિત

1. એચએસીસીપી ટીમને ભેગી કરો

ટીમે એચએસીસીપી યોજના વિકસાવે છે , એસએસઓપી લખે છે , એચએસીસીપીને ચકાસે છે અને લાગુ કરે છે.

2. ઉત્પાદનનું વર્ણન કરો

ટીમે બનાવેલ ઉત્પાદનોની બધી સામગ્રી , ઘટકો, પેકેજિંગ અને સ્ટોરેજ સ્થિતિની સૂચિ બનાવવી જોઈએ.

3. ગ્રાહકના ઉપયોગના હેતુ અંગેનું વર્ણન કરો

તેમાં લક્ષ્યાંકિત ગ્રાહકનો પ્રકાર અને ઉત્પાદન કેવી રીતે તૈયાર કરવું અને તેનો ઉપયોગ કરવો તે શામેલ છે.

4. પ્રક્રિયા પ્રવાહની આકૃતિ

પ્રવાહની આકૃતિ સરળ અને સ્પષ્ટ હોવી જોઈએ. પ્રવાહની આકૃતિ કાચી સામગ્રી પ્રાપ્ત થાય ત્યાં**થી** જ્યાં સુધી સમાપ્ત ઉત્પાદન મોકલાઈ ન જાય ત્યાં સુધી ઉત્પાદન પ્રક્રિયામાં બધા વિશિષ્ટ પગલાં સૂચવે છે,.

5. **પ્રક્રિયા પ્રવાહની ચકાસણી**

એચએસીસીપીના અસરકારક અમલ માટે કામકાજના કલાકો દરમિયાન સુવિધાની મુલાકાત લઈને ફ્લોચાર્ટની શારીરિક રૂપે ચકાસણી કરવી આવશ્યક છે.

6. **જોખમનું વિશ્લેષણ કરો**

એચ.એ.સી.સી.પી. ટીમે તમામ શારીરિક , રાસાયણિક અને જૈવિક જોખમોની સૂચિ બનાવવી જોઈએ કે જે વપરાશના તબક્કા સુધી પ્રાથમિક ઉત્પાદન , પ્રક્રિયા, ઉત્પાદન અને વિતરણથી લઈને દરેક પગલા પર વ્યાજબી રીતે થવાની અપેક્ષા રાખી શકાય.

જૈવિક જોખમ

જૈવિક જોખમમાં રોગકારક બેક્ટેરિયા , ફૂગ, વાયરસ અને પરોપજીવીઓ શામેલ છે જે ગ્રાહકોને ખોરાક દ્વારા થતા ચેપ અથવા **ઝેર**નું કારણ બની શકે છે.

માછલી અને માછલીના ઉત્પાદનોમાં જાહેર આરોગ્યના મહત્વના બેક્ટેરિયા શામેલ છે

1. *એસ્ચેરીચીયા કોલી (ઇ. કોલી)*
2. *સાલ્મોનેલ્લા પ્રજાતિ*
3. *વિબ્રિઓ કોલેરા*
4. *વી પેરાહિમોલાયટિક્સ*
5. *લીસ્ટેરીયા મોનોસાયટોજેન્સ*
6. *કેમ્પાયલોબેક્ટર જેજુની*
7. *બેસિલસ સેરીઅસ*
8. *ક્લોસ્ટ્રિડિયમ બોટ્યુલિનમ*
9. *એરોમોનાસ પ્રજાતિ*

નિયંત્રણ પગલાં નક્કી કરો

એચ.એ.સી.સી.પી. ટીમે હવે વિચારણા કરવી જ જોઇએ કે નિયંત્રણના કયા પગલાઓ છે, જો કોઈ હોય તો, અસ્તિત્વમાં છે જે દરેક જોખમ માટે લાગુ કરી શકાય છે.

નિયંત્રણ પગલાંનાં ઉદાહરણો: -

જૈવિક જોખમ: સૂક્ષ્મજૈવિક દૂષણ ઘટાડવા માટે સમય/તાપમાન નિયંત્રણ અને આરોગ્યપ્રદ પ્રણાલીઓ.

સૂક્ષ્મજૈવિક જોખમો માટેના દૂષણના સ્રોત છે

- પ્રદૂષિત પાણીથી માછીમારી.
- પ્રક્રિયા માટે દૂષિત પાણીનો ઉપયોગ.
- માણસ અને પ્રાણીઓના આંતરડાના માર્ગમાં સજીવનું પ્રાથમિક નિવાસસ્થાન.
- અયોગ્ય વ્યક્તિગત સ્વચ્છતા.
- *સાલ્મોનેલ્લા* વાહક હોય તેવા કામદારો દ્વારા ખાદ્ય સામગ્રીનું સંચાલન.

- દૂષિત ખોરાક, વ્યક્તિથી વ્યક્તિના સંપર્ક, ગંદા ખોરાકના સંપર્કની સપાટી દ્વારા ખોરાકને ક્રોસ દૂષણ વગેરે.

નિવારક પગલાં

- ફિશ હેન્ડલર્સના આરોગ્ય અને સ્વચ્છતા પર પૂરતો નિયંત્રણ.
- હેન્ડલિંગ અને પ્રક્રિયા દરમિયાન સામગ્રીનું 4°સે નીચે રેફ્રિજરેશન.
- સીફૂડનો ખાસ કરીને રસોઈ પછી સમય/તાપમાનના દુરૂપયોગને ઓછું કરો.
- પ્રદૂષિત પાણીથી માછલી પકડવાનું ટાળો.
- કિનારાના/બંદરના પાણીથી ધોવાનું ટાળો.
- સીફૂડ હેન્ડલિંગમાં ઝાડા/ઉલટીથી પીડાતા કામદારોને ટાળો.
- કેમિકલ જોખમો: કાચા માલનું પરીક્ષણ, ફૂડ એડિટિવ્સની એપ્લિકેશન

શારીરિક જોખમો: મેટલ ડિટેક્ટરનો ઉપયોગ

7. નિર્ણાયક નિયંત્રણ બિંદુઓ (સીસીપી) નક્કી કરો

સીસીપી એ એક પ્રક્રિયા પગલું છે કે જ્યાં ખોરાક સલામતીના જોખમને રોકવા અથવા દૂર કરવા અથવા તેને સ્વીકાર્ય સ્તર સુધી ઘટાડવા માટે નિયંત્રણ લાગુ કરી શકાય છે.

તે એક શ્રેષ્ઠ અને યોગ્ય બિંદુ છે કે જ્યાં નોંધપાત્ર સંકટને અસરકારક રીતે નિયંત્રિત કરી શકાય છે. સીસીપી એ ઉત્પાદન અને પ્રક્રિયા વિશિષ્ટ છે. દા.ત. કાચો માલ પ્રાપ્ત કરવાનું પગલું, રાંધણ પગલું અને મેટલ ડિટેક્શન સ્ટેપ.

સૂક્ષ્મજૈવિક જોખમો પર ફ્રીઝીંગની અસર

- ઇ. કોલી ફ્રીઝીંગ અને શિત સંગ્રહ માટે ખૂબ જ સંવેદનશીલ છે. - 40°સે માં ફ્રીઝ કરીને 95% જીવને દૂર કરી શકાય છે. ઇ કોલીનો સંપૂર્ણ વિનાશ લગભગ 3 મહિના સુધી શિત સંગ્રહ (-18 ± 20 °સે) પર શક્ય છે.
- *સાલ્*મોનેલાના તમામ સેરોટાઇપ્સ - 40°સે પર ઠંડક દરમિયાન ટકી શકે છે અને સીરોટાઇપ અને પ્રારંભિક ભારને આધારે 9 મહિના સુધી -18°સે પર શિત સ્થિતિમાં પણ જીવી શકે છે.

8. જટિલ મર્યાદા (સીએલ) સ્થાપિત કરો

સીએલ એ મહત્તમ અને/અથવા લઘુત્તમ મૂલ્ય છે કે જેમાં કોઈ ફૂડ સેફ્ટી જોખમની ઘટનાને અટકાવવા, દૂર કરવા અથવા સ્વીકાર્ય સ્તરે ઘટાડવા માટે જૈવિક, રાસાયણિક અથવા શારીરિક પરિમાણને સીસીપી પર નિયંત્રિત કરવું આવશ્યક છે.

સીએલ એ એક માપદંડ છે જે સ્વીકાર્યતાને અસ્વીકાર્યતાથી અલગ કરે છે.

9. મોનિટરિંગ પ્રક્રિયા સ્થાપિત કરો

સીસીપી નિયંત્રણ હેઠળ છે કે નહીં તે ચકાસણી કરવા અને આકારણીમાં ભવિષ્યના ઉપયોગ માટે સચોટ રેકોર્ડ ઉત્પાદન કરવા માટે નિરીક્ષણો અથવા માપનો આયોજિત ક્રમ હાથ ધરવા.

મોનિટરિંગ કાર્યવાહીનો ઉદ્દેશ્ય આકારણી કરવાનો છે કે સીસીપી નિયંત્રણ હેઠળ છે કે નહીં.

10. સુધારણાત્મક કાર્યવાહી પ્રક્રિયાઓ સ્થાપિત કરો

જ્યારે ગંભીર મર્યાદાઓનું ઉલ્લંઘન કરવામાં આવે ત્યારે સુધારાત્મક પગલા લેવા જોઈએ. એક સુધારણાત્મક ક્રિયા યોજના અગાઉથી તૈયાર કરવી આવશ્યક છે , જેથી સુધારાત્મક પગલા લેવામાં કોઈ વિલંબ ન થાય.

સુવિધાઓ		**ઉત્પાદન સાધનો**
અડીને મિલકત	કચરો નિકાલ	સેનિટરી ડિઝાઇન/ઇન્સ્ટોલેશન
મકાન બાહ્ય	સેનિટરી સુવિધાઓ/હાથ ધોવા	સફાઈ/સ્વચ્છતા
મકાન આંતરિક	પાણી, લાઇટિંગ	નિવારક જાળવણી
ટ્રાફિક ફ્લો પેટર્ન		માપાંકન
વેન્ટિલેશન		

કાચો માલ નિયંત્રણો	**ઉત્પાદન નિયંત્રણ**	**તાલીમ**
સપ્લાયર સ્પષ્ટીકરણ મંજૂરી	ઉત્પાદન ઝોન નિયંત્રણ	વ્યક્તિગત સલામતી
રસીદ અને સંગ્રહ	વિદેશી સામગ્રી નિયંત્રણ	વ્યક્તિગત જી.એમ.પી.
પરીક્ષણ	ધાતુ સંરક્ષણ કાર્યક્રમ	એચ.એ.સી.સી.પી.
	કાચ નિયંત્રણ	

સ્વચ્છતા	**સંગ્રહ અને વિતરણ**	**ઉત્પાદન નિયંત્રણ**
માસ્ટર શેડ્યૂલ	ભેજ નિયંત્રણ	લેબલિંગ
જંતુ નિયંત્રણ	વાહન સફાઇ	ટ્રેસબેક અને રિકોલ
રાસાયણિક નિયંત્રણ	અને નિરીક્ષણ	ફરિયાદ તપાસ

આકૃતિ 1: એએચસીસીપીને સહાયતા કરતા પૂર્વ-જરૂરી પ્રોગ્રામ્સ

11. ચકાસણી અને માન્યતા

ચકાસણીનો હેતુ એ વિશ્વાસના સ્તરને પ્રદાન કરવાનો છે કે એચએસીસીપી યોજના ઘન વૈજ્ઞાનિક સિદ્ધાંતો પર આધારિત છે, તે ઉત્પાદન અને પ્રક્રિયા સાથે સંકળાયેલા જોખમોને નિયંત્રિત કરવા માટે પૂરતી છે, અને તેનું પાલન કરવામાં આવી રહ્યું છે. દેશોની જરૂરિયાત મુજબ, સરકારી એજન્સીઓ અથવા બાહ્ય એજન્સીઓના સહયોગથી આ ચકાસણી આંતરિક અથવા બાહ્યરૂપે થઈ શકે છે.

12. રેકોર્ડ રાખવા માટેની સારી કાર્યવાહી સ્થાપિત કરો

રેકોર્ડ્સ એ મહત્વપૂર્ણ સાધનો છે જે અસરકારક એચએસીસીપી સિસ્ટમનું સંચાલન કરવાનું શક્ય બનાવે છે.

એચ.એ.સી.સી.પી. ઓડિટ — જોડાણ 1

ક્રમ નં.	વિગતો		અવલોકનો			ટીકાઓ
I. સુવિધામાં વપરાયેલ પાણી અને બરફની સલામતી						
			પર્યાપ્ત	ઉચિત	કાર્યક્ષમ	
1	પાણીનો સ્રોત	બોરવેલ પાણી / પાણીનાં ટેન્કર				
2	સ્રોત નિયંત્રણ	ગુ.ની. વિભાગ દ્વારા બહારના દૂષણોથી સુરક્ષા અને કાચા પાણીના સ્ત્રોતમાંથી પરીક્ષણ				
3	પાઇપલાઇન્સ / હોઝની શુદ્ધતા અને શરતો	પાણીના વિતરણ માટે પાઈપો અને હોસીસ પૂરા પાડવામાં આવે છે				
4	જળ શુદ્ધિકરણ સિસ્ટમ	ફિલ્ટરેશન પ્લાન્ટમાં રેતી કમ કાર્બન ફિલ્ટર, સોફ્ટનર, ઓટો ક્લોરિન ડોઝર હોય છે				
5	બેકવોશિંગ સિસ્ટમ	દૈનિક આવર્તન પર સ્વચાલિત બેકવોશિંગ સિસ્ટમ				
6	પાણી સંગ્રહ કરવાની ટાંકી	ભૂગર્ભ અને ઓવરહેડ પાણીની ટાંકી અને તેની આરોગ્યપ્રદ સ્થિતિ				

7	પાણીની ટાંકીની સફાઈ	સફાઇના સમયપત્રક મુજબ, મહિનામાં એકવાર ભૂગર્ભ ટાંકી અને ઓવરહેડ ટાંકી માટે				
8	પાણીની ટાંકીમાં સરળતા	પાણીની ટાંકીની ડિઝાઇન સરળ રીતે સફાઈની સુવિધા માટે છે. અંદરના કામદારોના પ્રવેશ માટે મેન છિદ્રો અને સીડી પૂરી પાડવામાં આવે છે.				
9	ક્લોરીનેશન	પ્રક્રિયા પાણી -2 પીપીએમ (આપોઆપ ક્લોરિન ડોઝ દ્વારા) માટે પાણી હેન્ડ બોળવું - 20 પીપીએમ પગ ડૂબવું 50 -100 પીપીએમ વાસણો ધોવા અને ફ્લોર ધોવા- 50-100 પીપીએમ (મેન્યુઅલ ક્લોરીનેશન દ્વારા)				
10	યુવી સારવાર	શુદ્ધિકરણ પછી અને વિતરણ પહેલાં યુવી ઇરેડિયેશન.				
11	ક્રોસ દૂષણને રોકવા માટેના નિયંત્રણો	ફક્ત પીવાલાયક પાણીની લાઇન. ડ્રેનેજ લાઇન સાથે ક્યાંય પાર થવાની તકો નથી. પાઇપ લાઇન સંપૂર્ણપણે લિક પ્રૂફ છે				
12	પાઇપલાઇન્સનું રંગ કોડિંગ	ફક્ત પીવાલાયક પાણીની લાઇન				
13	બેક સક્શનની રોકથામ	નળી ધારકો અને પરત ન મળતા વાલ્વ પૂરા પાડવામાં આવે છે.				
14	પીવાલાયક પાણી/ગટરના	પ્લમ્બિંગ લાઇનની રચના એવી રીતે છે કે ગટરની લાઇન સાથે ક્રોસિંગ થવાની શક્યતાઓને ટાળે, ક્યાંય પણ નહીં.				

	સંપર્કની શક્યતા					
15	પાણીના નળની સંખ્યા	ક્રમિક રીતે દરેક વિભાગો પર ક્રમાંકિત				
16	બરફ બનાવવા માટે પાણીના સ્ત્રોત	ફ્લેક આઈસ મેન્યુફેક્ચરિંગ યુનિટ એકીકૃત છે				
17	સ્રોત નિયંત્રણ	પોતાની ચેક સિસ્ટમ મેન્યુઅલના એસ.એસ.ઓ.પી. ભાગમાં સ્પષ્ટ કરેલ છે				
18	મશીનરીમાંથી ક્રોસ દૂષણની રોકથામ	બધી મશીનરી બરફ બનાવતા વિભાગોથી દૂર સ્થાપિત કરવામાં આવી હતી (અલગ વિસ્તાર પૂરો પાડવામાં આવેલ છે)				
19	કામદારો પાસેથી ક્રોસ દૂષણ	સારી સ્વચ્છતા પદ્ધતિઓ અને કર્મચારીઓની સ્વચ્છતા અને કર્મચારીઓની પ્રથાઓનું દૈનિક તપાસ કરીને				
20	હેન્ડલિંગ દરમિયાન દૂષણ	હેન્ડલિંગની સારી રીતોનું પાલન કરીને અટકાવેલ				
21	સ્ટોર કરતી વખતે દૂષણ	ફ્લેક બરફ સીધા ફ્લોર પર ન રાખવા માટેની જોગવાઈઓ/સાવચેતી				
22	પાણી અને બરફના પરીક્ષણ અહેવાલો	ઇસી ડિરેક્ટિવ 98/83/ઇસી મુજબ સંતોષકારક				
23	મોનીટરીંગ પરિણામો	સંતોષકારક				

II. વાસણો, ગ્લોવ્સ અને બાહ્ય વસ્ત્રો સહિત, ખોરાકના સંપર્કની સપાટીની સ્થિતિ અને સ્વચ્છતા						
1	ડિઝાઇન, કારીગરી, સામગ્રી અને એફસીએસની જાળવણી	સ્વચ્છતા જાળવવાના સંદર્ભમાં ખાદ્યપદાર્થો અથવા ખાદ્ય પદાર્થોના સંપર્ક સપાટી પર આવતા તમામ ઉપકરણો અથવા વાસણો માટે વપરાયેલી ડિઝાઇન કારીગરી અને સામગ્રી				
2	એફસીએસની સ્થિતિ					
	એ) ગ્લોવ્સ	અંતિમ ઉત્પાદનને સંચાલિત કરવા માટે કામદારો દ્વારા ઉપયોગમાં લેવામાં આવતા ગ્લોવ્સની આરોગ્યપ્રદ સ્થિતિ અને તેનો ઉપયોગ				
	બી) બાહ્ય વસ્ત્રો	કામદારો દ્વારા પહેરેલા બાહ્ય વસ્ત્રોની સ્થિતિ અને સ્વચ્છતા સંતોષકારક જોવા મળે છે				
	સી) બરફના ઉત્પાદન માટેના ઉપકરણો	બરફના સંગ્રહ માટે ઉપયોગમાં લેવાતા ઉપકરણોની આરોગ્યપ્રદ સ્થિતિ				
	ડી) સંગ્રહ અને પેકિંગ સામગ્રી	સંગ્રહ દરમિયાન સંગ્રહ પરિસર અને પેકિંગ મટિરિયલ્સની આરોગ્યપ્રદ સ્થિતિ				
3	સ્વચ્છતા/અને એફસીએસની સ્વચ્છતા	કાચા માલ પ્રાપ્ત કરવા, પૂર્વ પ્રક્રિયા, પ્રક્રિયા અને પરિવહન કરતી વખતેના વિભાગોમાં એફસીએસની સ્થિતિ				
4	ઉપયોગમાં લેવાતા સેનિટાઈઝરનું પ્રકાર અને સાંદ્રતા	લિક્વિડ ક્લોરિન (સોડિયમ હાયપોક્લોરાઇટ સોલ્યુશન) 6.00% ની સાંદ્રતા				
5	તાલીમ અને શિક્ષણ	એચએસીસીપી માર્ગદર્શિકાના જીએમપી ભાગમાં નિર્દિષ્ટ તાલીમ				

III. બાહ્ય પદાર્થોથી લઈને ફૂડ પેકેજિંગ મટિરિયલ્સ અને અન્ય ખાદ્ય પદાર્થોની સપાટીઓ, વાસણો, ગ્લોવ્સ અને અન્ય બાહ્ય વસ્ત્રો સહિત અને કાચા ઉત્પાદનથી રાંધેલા ઉત્પાદમાં ક્રોસ દૂષણની રોકથામ.						
1	દ્વારા ક્રોસ દૂષણ					
	એ) કામદારો હાથ, મોજા, બાહ્ય વસ્ત્રો	હાથ ધોવા અને સેનિટાઇઝિંગ સુવિધાઓ, અંતિમ ઉત્પાદનને હેન્ડલ કરવા માટે સિંગલ યુઝ ડિસ્પોઝેબલ ગ્લોવ્સનો ઉપયોગ. દરેક ઓપરેશન પછી ગણવેશ ધોવા અને ઇસ્ત્રી કરવી.				
	બી) એક્સીએસ કચરાના સંપર્કમાં આવે છે	કચરાને અલગ કરવાની રીત, નિયંત્રણ અને કચરાના નિકાલનું આવર્તન				
	સી) કચરાનું તાપમાન	કચરાના બેક્ટેરિયલ ગુણાકારને અટકાવવા બરફના ઉમેરા દ્વારા કચરાનું તાપમાન ઘટાડવામાં આવે છે				
2	કાચા ઉત્પાદન થી બ્લાન્ચ્ડ પ્રોડક્ટ ના પ્રવાહની દિશા	આર/એમ થી બ્લાન્ચ્ડ પ્રોડક્ટને પ્રાપ્ત કરવા માટે ઉત્પાદનો એક દિશા નિર્દેશીય પ્રવાહ અવલોકન કર્યો				
3	કાચા અને બ્લાન્ચ્ડ ઉત્પાદનોનો પૂરતો અલગ	ઉચ્ચ જોખમ અને ઓછું જોખમ ધરાવતું ક્ષેત્ર કાચા, સ્થિર અને બ્લાન્ચ્ડ નું જુદા જુદા અવલોકન				
4	કર્મચારીઓનો પ્રવાહ	એક દિશા નિર્દેશીય				
5	ગટરનો પ્રવાહ	ઉત્પાદનના પ્રવાહની વિરુદ્ધ				
6	કર્મચારીની પ્રેક્ટિસ	કર્મચારીઓની પદ્ધતિઓ (જવાબદાર વ્યક્તિ દ્વારા મોનીટર થયેલ)				
7	સફાઇ સમયપત્રક	એચ.એ.સી.સી.પી. માર્ગદર્શિકામાં વર્ણવેલ સફાઇ શેડ્યૂલ મુજબ				

8	વ્યક્તિગત સ્વચ્છતા	તેમના એચએસીસીપી માર્ગદર્શિકાના જીએમપી અને એસએસઓપી ભાગ મુજબ				
9	કર્મચારીઓની ખોરાક સંભાળવાની પ્રથા	કર્મચારીઓની કાચી સામગ્રી/ફિનિશ્ડ પ્રોડક્ટ હેન્ડલિંગની પ્રથાઓ				
10	એપ્રોન અને અન્ય કપડાં ધોવા માટેની સુવિધા	આઉટ-સોર્સ કરેલી વ્યવસ્થા				
IV. હાથ ધોવા અને સેનિટાઇઝિંગ અને શૌચાલય સુવિધાઓની જાળવણી						
1	હાથ ધોવાની સુવિધા	સ્થાન ડિઝાઇન અને સ્થિતિ				
2	ઉપયોગમાં લેવાતા સેનિટાઇઝરની સાંદ્રતા	સોડિયમ હાયપોક્લોરાઇટ સોલ્યુશન - 20 પીપીએમથી ઓછું				
3	નોન હેન્ડ સંચાલિત નળની પૂરતી સંખ્યા	નોન હેન્ડ ઓપરેટેડ નળની સંખ્યા અને જાળવણી				
4	શૌચાલય સુવિધાઓની સંખ્યા	યોગ્યતા અને સ્થાનની ઉપલબ્ધતા				
5	શૌચાલય સુવિધાઓની સ્થિતિ	સ્થાન સ્વચ્છતા/જાળવણી/ફ્લાય પ્રુફ વ્યવસ્થા				
6	જાળવણી અને સમારકામ	પ્રેક્ટિસ અને જાળવણી માટેનું સમયપત્રક				
7	દરેક પ્રવેશ બિંદુઓ પર પગ	(ફુટ ડિપ્સ) નંબર અને સ્થાન				

	ધોવા					
8	હાથની ડીપ્સ અને પગના ડીપ્સમાં સેનિટાઇઝરની શક્તિ	હાથની ડીપ્સ માટે 20 પીપીએમ અને પગના ડીપ્સ માટે 50 થી 100 પીપીએમ				
9	પાણીના નળની સંખ્યા	સંતોષકારક				
10	નોન હેન્ડ સંચાલિત પાણીના નળ અને નળ	તમામ નોન હેન્ડ સંચાલિત પાણીના નળનું કાર્ય અને સ્થાન				
11	પ્રવાહી સાબુ વિતરકો	કામદારોની શક્તિ અને વૉશ બેસિનની સંખ્યાના સંબંધમાં સંખ્યા				
12	કાગળ નેપકિન્સ, ટુવાલ	સંખ્યાબંધ અથવા જંતુરહિત કાગળ અને ટુવાલનો જથ્થો				
13	વિશિષ્ટ સૂચનાઓ અને સાઇન બોર્ડ	હાથ ધોવાની સૂચનાઓ અને અસરકારક હાથ ધોવા માટેના અને સેનિટાઇઝિંગ માટેના સાઇન બોર્ડ તમામ ક્ષેત્રમાં				
V. **ખોરાક, ખોરાકના સંપર્કની સપાટીઓ, ફૂડ પેકેજિંગ સામગ્રીનું બળતણ અને ઊંજણ, રસાયણો, જંતુનાશકો, સફાઈ સંયોજનો, સેનિટાઇઝિંગ એજન્ટો, કન્ડેન્સેટ અને અન્ય રાસાયણિક શારીરિક અને જૈવિક દૂષણોમાંથી રક્ષણ. પવન ભરાઇ રહેલી ધૂળ અને પાણી અને અન્ય બાહ્ય પદાર્થો**						
1	ઇંધણ અને ઊંજણ,	સંગ્રહ અને સ્થાન (એક જવાબદાર વ્યક્તિની દેખરેખ હેઠળ ખોરાક ઉત્પાદનના ક્ષેત્રથી દૂર)				
2	ફ્લોર સ્પ્લેશ, ડ્રિપ કન્ડેન્સેટ	ફ્લોર સ્પ્લેશ અને ડ્રિપ કન્ડેન્સેટની રોકથામ માટેના પ્રયાસો અથવા				

		કામગીરી સંતોષકારક જોવા મળી છે				
3	પવન ધૂળ	પરિસર અને કમ્પાઉન્ડ દિવાલની કોંક્રિટિંગ				
5	ફૂડ પેકેજિંગ મટિરિયલ અને એફસીએસ	દૂષિતતાને રોકવા માટે પેકેજિંગ સામગ્રીના સંગ્રહ દરમિયાન પગલાં અને પ્રથાઓ				
VI. ઝેરી સંયોજનોનો યોગ્ય લેબલિંગ, સંગ્રહ અને ઉપયોગ						
1	વપરાયેલ સંયોજનોની સંખ્યા					
2	સંયોજનોનો સ્રોત					
3	વાપરવાની કાનૂની પરવાનગી					
4	કન્ટેનરનું યોગ્ય લેબલિંગ	સંયોજનોની સરળ ઓળખ માટે કન્ટેનરનું યોગ્ય લેબલિંગ				
	કંપાઉન્ડનું નામ					
	યોગ્ય ઉપયોગ માટેની સૂચના					
	વર્કિંગ કન્ટેનર લેબલ					
5	ઝેરી સંયોજનોનું યોગ્ય સંગ્રહ					
6	મર્યાદિત ઉપલબ્ધતા સાથેનો	વ્યક્તિઓ પર પ્રતિબંધ				

	ઓરડો					
7	ઝેરી સંયોજનોનો યોગ્ય ઉપયોગ	કોઈ ઝેરી સંયોજનો ઉપયોગમાં લેવાયા નથી				
VII. કર્મચારીની આરોગ્યની સ્થિતિનું નિયંત્રણ કે જેનાથી ખોરાક, ફૂડ પેકેજીંગ સામગ્રી અને ફૂડ સંપર્ક સપાટીઓનું સૂક્ષ્મજૈવિક દૂષણ થઈ શકે						
1	કંપની નીતિ સેટ કરો					
	a) આરોગ્ય અને કર્મચારીઓની સ્વચ્છતા	એચએસીસીપી મેન્યુઅલના જીએમપી અને એસએસઓપી ભાગ મુજબ પ્રક્રિયા અથવા પદ્ધતિઓ				
	બી) માંદા કર્મચારીઓ સાથે કેવો વ્યવહાર કરવો	એચએસીસીપી મેન્યુઅલના જીએમપી અને એસએસઓપી ભાગ મુજબ પ્રક્રિયા અથવા પદ્ધતિઓ				
2	કર્મચારીઓની આરોગ્યની સ્થિતિ	એચએસીસીપી મેન્યુઅલના જીએમપી અને એસએસઓપી ભાગ મુજબ પ્રક્રિયા અથવા પદ્ધતિઓ				
3	આરોગ્યની સ્થિતિનું મૂલ્યાંકન કરવા માટેનો પ્રોટોકોલ	તબીબી વ્યવસાયિક દ્વારા દરેક કર્મચારીઓના આરોગ્ય કાર્ડની નોંધણી				
4	કર્મચારીઓને તાલીમ આપવી	ગુ.ની. પ્રભારી દ્વારા દરેક કામદારોની ઘર-તાલીમ				
5	કર્મચારીઓના આરોગ્યની દેખરેખ	એચએસીસીપી માર્ગદર્શિકાના એસએસઓપી ભાગ 7 મુજબ કાર્યવાહી અથવા પદ્ધતિઓ				

6	કર્મચારીઓની જવાબદારી	દરેક કામદારો દ્વારા બીમારીની સ્વયં રિપોર્ટિંગ સિસ્ટમ				
7	સારું સ્વાસ્થ્ય જાળવવું	કામદારોની તંદુરસ્તી સારી સ્થિતિમાં જાળવવાની સ્વયં જવાબદારી				
VIII. ફૂડ પ્લાન્ટમાંથી જીવાતોને બાકાત રાખવું						
1	બંદર અને આકર્ષક વિસ્તારોનો નાબૂદ	પરિસરમાંથી સ્ક્રેપ્સ, કાટમાળ અને અન્ય કચરો દૂર કરવો				
2	બાઈટ નકશા	બાઈટ નકશા મુજબ જરૂરી સ્ટેશનો પર બાઈટ નકશાની જાળવણી				
3	જીવાતોની બાકાત અને સંહાર	જંતુઓ/બંદર/અને તેના જ સંવર્ધન વિસ્તારોના આકર્ષણને રોકવા માટેની જાળવણી				
4	બધા પ્રવેશો					
	દરવાજા અને પલટ પર હવા/ પટ્ટીના પડદા	જંતુઓ અને ઉંદરોના પ્રવેશને રોકવા માટે બધી એન્ટ્રીઝ અથવા પટ દરવાજા પર પટ્ટા અથવા હવા પડદા				
	જીવાતો માટે પેસેજ	સીલિંગ, તમામ છિદ્રો નું સ્કીનીંગ				
	દરવાજા અને વિંડોઝ	ગાબડાઓને રોકવા અને દરવાજાને સ્વ-બંધ કરવાની જોગવાઈ				
5	જંતુનાશકો અને ફોગિંગનો છંટકાવ	બહારની જીવાત નિયંત્રણ એજન્સી દ્વારા				

6	પક્ષીઓ માળો વિસ્તાર	બહારના પરિસરના નજીકના સ્થળોએ પક્ષીઓના માળાના વિસ્તારો માટે નિવારક પગલાં				
7	રાડેન્ટિસાઇડ્સનો ઉપયોગ	તે માટે વપરાયેલ રસાયણો				
8	રોડેન્ટ નકશો બાઈટ સ્ટેશનો/ફાંસો દર્શાવે છે	સૌથી વધુ જરૂરી સ્થળોએ ઉંદરોની જાળ જાળવવી				
9	ફ્લાય કેચર્સનું ઇલેક્ટ્રોક્યુટિંગ	તમામ એન્ટ્રી પોઇન્ટની નજીક ફ્લાય કેચર્સનું ફિક્સિંગ અને મૃત જીવાતને સમય સમય દૂર કરવા				
10	આસપાસના માટે અસરકારક સ્વચ્છતા કાર્યક્રમ	અસરકારક સફાઇ અને સ્વચ્છતા કાર્યક્રમો માટે આયોજિત સમયપત્રક				

****

સીફૂડ ગુણવત્તા ધોરણો
આશિષકુમાર ઝા

માછલી અથવા મત્સ્યઉદ્યોગ ઉત્પાદનોનો ઉપયોગ ખોરાક તરીકે થવાનો છે , તેમાં સુક્ષ્મજીવો અથવા તેમના ઝેર અથવા ઝેરના ચયાપચયની માત્રા હોવી જોઈએ નહીં જે માનવ સ્વાસ્થ્ય માટે અસ્વીકાર્ય જોખમનું કારણ બની શકે છે. ખાદ્ય પદાર્થની સલામતી મુખ્યત્વે હેઝાર્ડ એનાલિસિસ ક્રિટિકલ કંટ્રોલ પોઇન્ટ (એચ.એ.સી.સી.પી.) સિસ્ટમના અમલ જેવા નિવારક અભિગમ દ્વારા સુનિશ્ચિત કરવામાં આવે છે. માછલીના વ્યવસાયિક સંચાલકોએ માછલી અને મત્સ્યઉદ્યોગના ઉત્પાદનોને લગતા સુક્ષ્મજીવોના માપદંડનું પાલન કરવું જોઈએ. આમાં ખાદ્ય કાયદા અને સક્ષમ ઓથોરિટી દ્વારા અપાયેલી સૂચના અનુસાર નમૂના લેવા , વિશ્લેષણનું સંચાલન અને સુધારણાત્મક ક્રિયાઓના અમલીકરણ દ્વારા માપદંડ માટે નિર્ધારિત મૂલ્યો સામે પરીક્ષણ શામેલ છે. ખોરાક/માછલી/માછીમારી ઉત્પાદનોમાં સુક્ષ્મજીવોની હાજરી અથવા ગેરહાજરી માટે જુદા જુદા દેશોએ તેના પોતાના નિયમો અને વિશિષ્ટતાઓનો સમૂહ મૂક્યો છે.

ભારતની ફૂડ સેફ્ટી એન્ડ સ્ટાન્ડર્ડ્સ ઓથોરિટી ઓફ ઇન્ડિયા (એફએસએસએઆઈ) એ ફૂડ સેફ્ટી સ્ટાન્ડર્ડ્સ (ફૂડ પ્રોડકટ સ્ટાન્ડર્ડ્સ અને ફૂડ એડિટિવ્સ) ત્રીજી સુધારણા નિયમો , 2017 ને અગાઉના ફૂડ સેફ્ટી સ્ટાન્ડર્ડ્સ 2011 માં સુધારો કર્યો. નવા નિયમો માછલી અને માછલીના ઉત્પાદનો માટેના સૂક્ષ્મજીવોના ધોરણો વ્યાખ્યાયિત કરે છે. આ નિયમો 1 જાન્યુઆરી, 2018 ના રોજ અમલમાં આવ્યા છે.

નમૂના યોજના:

ઉપરોક્ત કોષ્ટકમાં N, c, m અને M શબ્દોનો નીચેનો અર્થ છે

n = નમૂનાનો સમાવેશ કરતી એકમોની સંખ્યા

c = m થી વધુ સૂક્ષ્મજીવાણુઓની ગણતરી ધરાવતા એકમોની મહત્તમ માન્ય સંખ્યા

m = માઇક્રોબાયોલોજીકલ મર્યાદા જે c એકમોની સંખ્યા ઓળંગી શકે છે

M = માઇક્રોબાયોલોજીકલ મર્યાદા જે કોઈ નમૂના એકમ વધી શકશે નહીં.

ભારતીય ધોરણ

માછલી અને મત્સ્યઉદ્યોગ ઉત્પાદનો-સુક્ષ્મ સૂચક સજીવની સૂક્ષ્મજીવાણિક આવશ્યકતાઓ

ક્ર. નં.	ઉત્પાદન ના પ્રકાર	એરોબિક પ્લેટની ગણતરી				કોએગ્યુલેઝ પોઝિટિવ સ્ટેફાયલોકોક્સ				યીસ્ટ અને મોલ્ડ			
		નમૂના યોજના		મર્યાદા (સીએફયુ/ગ્રા)		નમૂના યોજના		મર્યાદા (સીએફયુ/ગ્રા)		નમૂના યોજના		મર્યાદા (સીએફયુ/ગ્રા)	
		n	c	m	M	n	c	m	M	n	c	m	M
1.	ચિલ્ડ / ફ્રોઝન માછલી	5	3	$5x10^5$	$1x10^7$								
2.	ચિલ્ડ / ફ્રોઝન ક્રસ્ટેસિયન	5	3	$1x10^6$	$1x10^7$								
3.	ચિલ્ડ / ફ્રોઝન સેફાલોપોડ્સ	5	2	$1x10^5$	$1x10^6$								
4.	જીવંત બાયવલ્વ મોલ્લસ્ક												
5.	ચિલ્ડ ફ્રોઝન બાયવલ્વ	5	2	$1x10^5$	$1x10^6$								
6.	ફ્રોઝન કૂકડ ક્રિસ્ટાસીઅન્સ / ફ્રોઝન હીટ શક્ડ મોલ્લસ્ક	5	2	$1x10^5$	$1x10^6$	5	2	$1x10^2$	$1x10^3$				
7.	સુકવેલા/મીઠું ચડાવીને સુકવેલા માછીમારી ઉત્પાદનો	5	0	$1x10^5$						5	2	100	500
8.	થર્મલી પ્રોસેસ્ડ ફિશરી પ્રોડક્ટ્સ	વ્યાવસાયિક રીતે જંતુરહિત											
9.	ફિશ મિન્સ્ડ/સુરમી અને એનાલોગ	5	2	$1x10^5$	$1x10^6$	5	2	$1x10^2$	$1x10^3$				
10.	માછલી નું અથાણું	5	0	$1x10^3$		5	1	$1x10^2$	$1x10^3$				
	પરીક્ષણ પદ્ધતિઓ સૂચવેલ	આઈએસ: 5402 / આઇએસઓ 4833				આઈએસ: 5887 ભાગ 8 (સેકંડ 2) / આઇએસઓ 6888-2				આઈએસ: 5403/ આઇએસઓ 21527			

માછલી અને મત્સ્ય ઉત્પાદનો-સલામતી સૂચક સજીવની સૂક્ષ્મજીવાણિક આવશ્યકતાઓ

ક્ર. નં.	ઉત્પાદન ના પ્રકાર	*એસ્ચેરીચીયા કોલી*				*સાલ્મોનેલા*				*વિબ્રિઓ કોલેરા (O1 અને O139)*				*લીસ્ટેરીયા મોનોસાયટોજેન્સ*			
		નમૂના યોજના		મર્યાદાઓ (એમપીએન/ગ્રા)		નમૂના યોજના		મર્યાદા (સીએફયુ/ગ્રા)		નમૂના યોજના		મર્યાદા (સીએફયુ/ગ્રા)		નમૂના યોજના		મર્યાદા (સીએફયુ/ગ્રા)	
		n	**c**	**m**	**M**	**n**	**c**	**m**	**M**	**n**	**c**	**m**	**M**	**n**	**c**	**m**	**M**
1.	ચિલ્ડ / ફ્રોઝન માછલી	**5**	**3**	**11**	**500**	**5**	**0**	**25** ગ્રામ માં ગેરહાજર		**5**	**0**	**25** ગ્રામ માં ગેરહાજર					
2.	ચિલ્ડ / ફ્રોઝન ક્સ્ટેસિયન	**5**	**3**	**11**	**500**	**5**	**0**	**25** ગ્રામ માં ગેરહાજર		**5**	**0**	**25** ગ્રામ માં ગેરહાજર					
3.	ચિલ્ડ / ફ્રોઝન સેફાલોપોડ્સ	**5**	**2**	**20**		**5**	**0**	**25** ગ્રામ માં ગેરહાજર		**5**	**0**	**25** ગ્રામ માં ગેરહાજર					
4.	જીવંત બાયવલ્વ મોલ્લસ્ક	**5**	**1**	**230/ 100** ગ્રા	**700/ 100** ગ્રા												
5.	ચિલ્ડ ફ્રોઝન બાયવલ્વ	**5**	**2**	**46**		**10**	**0**	**25** ગ્રામ માં ગેરહાજર		**5**	**0**	**25** ગ્રામ માં ગેરહાજર					
6.	ફ્રોઝન કૂકડ ક્સ્ટેસિયન/ફ્રોઝન હીટ શક્ડ મોલ્લસ્ક	**5**	**2**	**1**	**10**	**5**	**0**	**25** ગ્રામ માં ગેરહાજર				**25** ગ્રામ માં ગેરહાજર		5	0	**25** ગ્રામ માં ગેરહાજર	

7.	સુકવેલા/મીઠું ચડાવીને સુકવેલા માછીમારી ઉત્પાદનો	5	0	20		5	0	25 ગ્રામ માં ગેરહાજર								
8.	ફર્મેન્ટેડ મત્સ્ય ઉત્પાદનો	5	2	4	40	10	0	25 ગ્રામ માં ગેરહાજર								
9.	ફિશ મિન્સ્ડ/સુરમી અને એનાલોગ	5	0	20		5	0	25 ગ્રામ માં ગેરહાજર	5	0	25 ગ્રામ માં ગેરહાજર		5	0	25 ગ્રામ માં ગેરહાજર	
10.	માછલી નું અથાણું	5	0	20		5	0	25 ગ્રામ માં ગેરહાજર								

ભારતના ગેઝેટથી અપનાવવામાં આવેલ (778GI / 2017)

નોંધ: ક્લોસ્ટ્રિડિયમ બોટ્યુલિનમ માટે ચિલ્ડ કે ફ્રોઝન ઉત્પાદનો માટે કોઈ મર્યાદા નિર્ધારિત નથી પરંતુ થર્મલી પ્રોસેસ્ડ મત્સ્ય ઉત્પાદનો અને ફર્મેન્ટેડ મત્સ્ય ઉત્પાદનોમાં ક્લોસ્ટ્રિડિયમ બોટ્યુલિનમના વ્યવહારુ બીજ અને જીવંત કોષોની ગેરહાજરી હોવી જ જોઇએ અને બોટ્યુલિનમ ઝેરની ગેરહાજરી હોવી જોઈએ.

યુરોપિયન માનક

યુરોપિયન સંસદ અને કાઉન્સિલે , ખોરાકના કાયદાના સામાન્ય સિદ્ધાંતો અને આવશ્યકતાઓ અંગે , યુરોપિયન ફૂડ સેફ્ટી ઓથોરિટીની સ્થાપના કરી અને રેગ્યુલેશન (ઇસી) નંબર 178/2002 અને કમિશન રેગ્યુલેશન(ઇસી) દ્વારા ફૂડ સેફ્ટીના મામલામાં કાર્યવાહી ગોઠવી. નં . 2073/2005 ખાદ્ય પદાર્થો માટેના માઇક્રોબાયોલોજીકલ માપદંડ સાથે વ્યવહાર કરે છે.

યુરોપિયન યુનિયનના દેશો દ્વારા અનુસરવામાં આવતા માછલી અને મત્સ્યઉદ્યોગના ઉત્પાદનો માટે કેટલાક મહત્વપૂર્ણ સૂક્ષ્મજૈવિક ધોરણ

ક્ર. નં.	ઉત્પાદન ના પ્રકાર	*એસ્ચેરીચીયા કોલી*				*સાલ્મોનેલા*				*લીસ્ટેરીયા મોનોસાયટોજેન્સ*				*કોગ્યુલેઝ-પોઝિટિવ સ્ટેફાયલોકોસી*			
		નમૂના યોજના		મર્યાદાઓ (એમપીએન/ગ્રા)		નમૂના યોજના		મર્યાદા (સીએફયુ/ગ્રા)		નમૂના યોજના		મર્યાદા (સીએફયુ/ગ્રા)		નમૂના યોજના		મર્યાદા (સીએફયુ/ગ્રા)	
		n	c	m	M	n	c	m	M	n	c	m	M	n	c	m	M
1.	નવજાત શિશુઓ માટે અને વિશેષ તબીબી હેતુ માટેના હેતુ સિવાય એલ.મોનોસાઇટોજેન્સના વિકાસને સમર્થન આપવામાં અસમર્થ ખાવા માટે તૈયાર ખોરાક									**5**	**0**	**25 ગ્રામ માં ગેરહાજર**					
2.	રાંધેલા ક્રસ્ટેસીઅન્સ અને મોલ્લસ્ક શેલ-ફિશ					**5**	**0**	**25 ગ્રામ માં ગેરહાજર**									
3.	રાંધેલા ક્રસ્ટેસીઅન્સ અને મોલ્લસ્ક શેલફિશના શેલ અને શ્ક્ડ પ્રોડક્ટ્સ	**5**	**2**	**1** (સીએફયુ /ગ્રા)	**10** (સીએફયુ /ગ્રા)									**5**	**2**	**100**	1000
4.	જીવંત બાયવોલ્વ મોલસ્ક અને જીવંત ઇકાયનોડર્મ્સ, ટ્યુનિકેટ્સ અને ગેસ્ટ્રોપોડ્સ	**1**	**0**	માંસ અને ઇન્ટ્રાવેલ્વ્યુલર પ્રવાહીના 230 એમપીએન/100 ગ્રામ		**5**	**0**	**25 ગ્રામ માં ગેરહાજર**									

ચીનમાં માછલી અને માછીમારીના ઉત્પાદનો માટેના સૂક્ષ્મજૈવિક ધોરણ

રિપબ્લિક ઓફ ચાઇનાના રાષ્ટ્રીય સ્વાસ્થ્ય અને કુટુંબ યોજના આયોગ (એનએચએફપીસી) એ પ્રાણી ઉત્પત્તિના પ્રક્રિયા થયેલ જળચર પ્રાણી ઉત્પાદનો માટે રાષ્ટ્રીય ફૂડ સેફ્ટી સ્ટાન્ડર્ડ પ્રકાશિત કર્યું છે. સ્ટાન્ડર્ડ બધી પ્રક્રિયા થયેલ જળચર પ્રાણી ઉત્પાદનો પર લાગુ કરવામાં આવે છે જે કાચા માલ તરીકે તાજા અને સ્થિર જળચર પ્રાણી ઉત્પાદનોમાંથી બનાવવામાં આવે છે.

માઇક્રોબાયોલોજીકલ મર્યાદા

ક્ર. નં.	ઉત્પાદન ના પ્રકાર	એરોબિક પ્લેટની ગણતરી				કોલિફોર્મ કોલોની			
		નમૂના યોજના		મર્યાદા (સીએફયુ/ગ્રા)		નમૂના યોજના		મર્યાદા (સીએફયુ/ગ્રા)	
		n	**c**	**m**	**M**	**n**	**c**	**m**	**M**
1.	પ્રાણી મૂળના જળચર ઉત્પાદનો	**5**	**2**	**$5x10^4$**	**$1x10^5$**	**5**	**2**	**10**	**10^2**

****