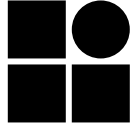


دستورالعمل فنی

روش تعیین حجم لوپ

آزمایشگاه مرجع سلامت
وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی
تابستان ۱۳۹۶

محل مهر تضمین کیفیت	
تاریخ:	تاریخ:

صفحه 1 از 4	دستورالعمل فنی	 آزمایشگاه مرجع سلامت
	روش تعیین حجم لوپ	

روش تعیین حجم لوپ

برای شمارش کلنی‌های بدست آمده از کشت نمونه‌های بالینی بویژه ادرار به منظور تشخیص عفونت لازم است از لوپ‌های استاندارد با حجم معین استفاده شود. آزمایشگاه باید همواره از لوپ‌های کالیبره جهت کشت نمونه‌های ادراری، استفاده و تعداد کلنی‌های موجود در هر میلی‌لیتر ادرار (CFU/ml) را گزارش نماید.


برای بررسی حجم لوپ از روش‌هایی مانند رنگ‌سنجی و توزین استفاده می‌شود. ساده‌ترین روش برای بررسی حجم لوپ استفاده از روش رنگ‌سنجی از طریق اسپکتروفتومتر یا فتومتر به کمک مواد رنگی مانند متیلن بلو، کریستال ویوله و اوانس بلو می‌باشد. در این دستورالعمل روش رنگ‌سنجی با استفاده از اوانس بلو توضیح داده شده است. در صورت استفاده از سایر مواد رنگی، باید طول موج و جذب نوری ویژه همان ماده به کار برده شود.

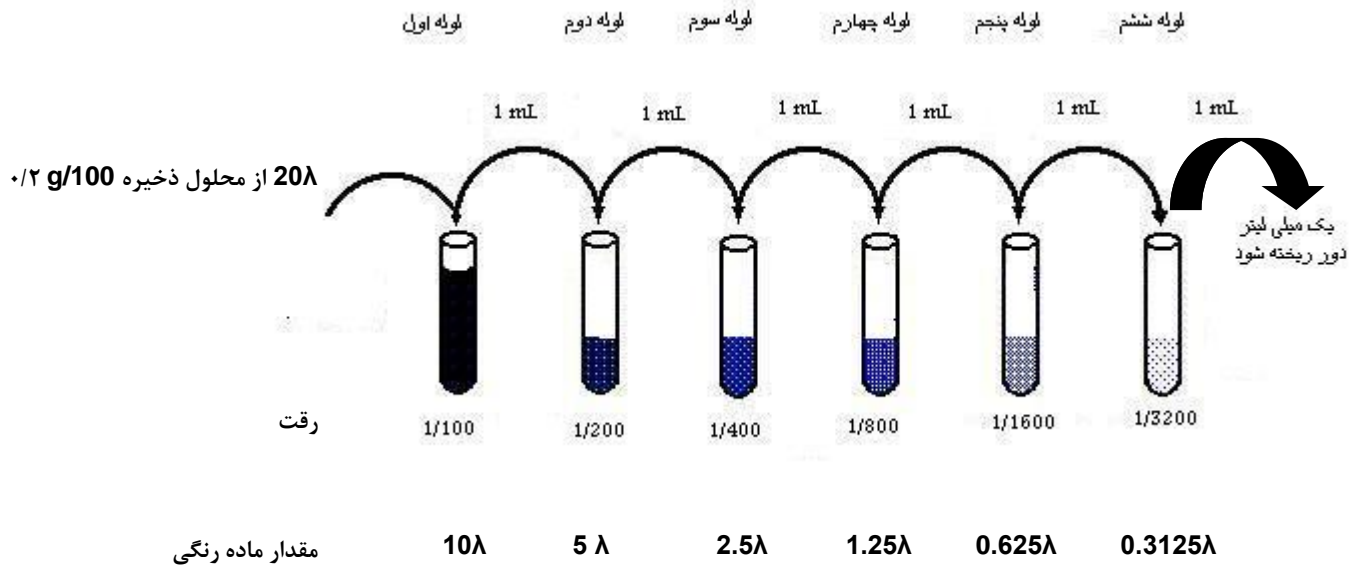
ابزار و مواد مورد نیاز تعیین حجم لوپ با استفاده از ماده رنگی اوانس بلو

- ۱- پودر اوانس بلو (Evans Blue). این ماده به صورت پودر تجاری قابل دسترس بوده و به آسانی در آب حل می‌شود.
- ۲- آب مقطر
- ۳- لوله آزمایش
- ۴- پیپت یا سمپلر
- ۵- اسپکتروفتومتر یا فتومتر کالیبره
- ۶- کاغذ میلی متری

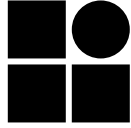
روش انجام

- ۱- ۲۰ mg از پودر رنگی اوانس بلو را در ۱۰ میلی لیتر آب حل نمایید. غلظت این محلول ۰/۲ g/100 می‌باشد.
- ۲- ۶ لوله آزمایش انتخاب کرده، در لوله اول ۲ ml و در هر یک از لوله‌های باقیمانده ۱ ml آب مقطر بریزید. ۲۰ میکرولیتر (۰/۲ ml) از محلول ذخیره اولیه (۰/۲ g/100) برداشته، در لوله اول ریخته و کاملاً مخلوط نمایید. سپس ۱ ml از لوله اول برداشته و در لوله دوم بریزید، از لوله دوم، در لوله سوم و این عمل را تا آخر ادامه دهید. در انتها یک میلی لیتر از لوله ششم را برداشته و دور بریزید. به این ترتیب ۶ محلول خواهید داشت که رقت نهایی بدست آمده در هر یک و میزان ماده رنگی موجود در آن به شرح زیر خواهد بود.

صفحه 2 از 4	دستورالعمل فنی	 آزمایشگاه مرجع سلامت
	روش تعیین حجم لوپ	



- ۳- میزان جذب نوری (OD) هر یک از ۶ محلول حاصله را به کمک اسپکتروفوتومتر در طول موج ۶۲۰ nm بدست آورید.
 - ۴- جهت تعیین حجم لوپ مورد بررسی، ۱۰ لوله آزمایش برداشته و در هر یک ۱ میلی لیتر آب مقطر بریزید.
 - ۵- لوپ تحت کنترل را به طور کاملا عمودی وارد محلول ذخیره اولیه نموده، از محلول رنگی برداشته و در لوله های آزمایش فرو برید. این کار را ۱۰ بار تکرار و در فواصل لوپ را روی کاغذ خشک کن قرار دهید تا کاملا خشک شود. از سوزاندن لوپ خودداری نمایید.
 - ۶- بعد از مخلوط کردن، جذب هریک از لوله ها را در طول موج ۶۲۰ nm قرائت نمایید.
 - ۷- بر روی کاغذ میلی متری، نموداری ترسیم نمایید که در آن، محور افقی نشانگر رقت های تهیه شده و محور عمودی نمایانگر جذب نوری هر رقت باشد.
 - ۸- با قرار دادن میانگین جذب بدست آمده از لوپ کنترلی، روی محور عمودی می توان ضریب رقت لوپ کنترلی را از روی محور افقی بدست آورد.
- جهت تعیین تعداد کلنی در هر میلی لیتر ادرار، باید تعداد کلنی های بدست آمده از کشت روی پلیت را در عکس ضریب رقت لوپ، ضرب کرد. به طور مثال اگر ضریب رقت لوپ مجهول ۱/۱۰۰ و تعداد کلنی های روی پلیت ۵۰۰ عدد باشد، باید ۵۰۰ را در ۱۰۰ ضرب و نتیجه را به صورت ۵۰/۰۰۰ cfu/ml گزارش نمود.

صفحه 3 از 4	دستورالعمل فنی	 آزمایشگاه مرجع سلامت
	روش تعیین حجم لوپ	

روش های دیگری نیز برای بررسی میزان حجم برداشتی توسط لوپ باکتریولوژی وجود دارد که از بین آنها می توان به روش توزینی مندرج در کتاب Diagnostic microbiology ,Elmer W.Koneman, 5th edition, page 96 اشاره کرد که در آن با استفاده از ترازوی بسیار حساس، تغییرات وزن دیسک کاغذی بعد از افزودن یک لوپ آب مقطر روی آن، محاسبه می گردد.