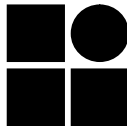


کد: M-06/00 صفحه 1 از 3	روش تعیین حجم لوپ	 آزمایشگاه مرجع سلامت
---------------------------------------	--------------------------	---

برای شمارش کلنی‌های بدست آمده از کشت نمونه‌های بالینی بویژه ادرار به منظور تشخیص عفونت لازم است از لویهای استاندارد با حجم معین استفاده شود. آزمایشگاه می‌بایست همواره از لویهای 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. ساده ترین 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.

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

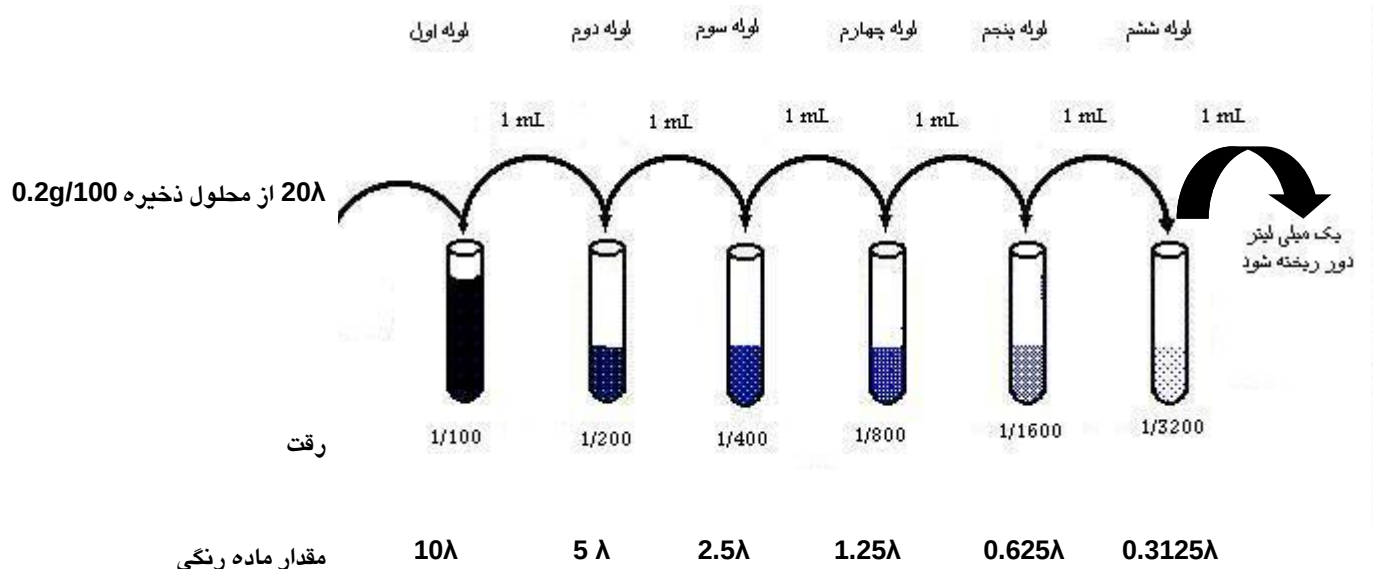
- ۱- پودر اوانس بلو (Evans Blue). این ماده به صورت پودر تجاری قابل‌دسترس بوده و به آسانی در آب حل می‌شود.
- ۲- آب مقطر
- ۳- لوله آزمایش
- ۴- پیپت یا سمپلر
- ۵- اسپکتروفتومتر یا فتومتر کالیبره
- ۶- کاغذ میلیمتری

روش انجام

- ۱- 20mg از پودر رنگی اوانس بلو را در ۱۰ میلی لیتر آب حل نمایید. غلظت این محلول 0.2g/100 می‌باشد.
- ۲- ۶ لوله آزمایش انتخاب کرده ، در لوله اول 2ml و در هر یک از لوله‌های باقیمانده 1ml آب مقطر بریزید. 20 لانه (0.02 ml) از محلول نخیره اولیه (0.2g/100) برداشته در لوله اول ریخته و کاملاً مخلوط نمایید. سپس 1ml از لوله اول برداشته و در لوله دوم بریزید ، از لوله دوم ، در لوله سوم و این عمل را تا آخر ادامه

روش تعیین حجم لوپ

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 بشرح زیر خواهد بود.



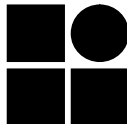
۳- میزان جذب نوری (OD) هر یک از ۶ محلول حاصله را به کمک اسپکتروفتومتر در طول موج 620nm بدست آورید.

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 بطور کاملاً 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 کاملاً خشک شود. از سوزاندن لوپ خودداری نمایید.

۶- بعد از مخلوط کردن، جذب هریک از لوله ها را در طول موج 620nm قرائت نمائید.

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. (مشابه ضمیمه ۴)

کد: M-06/00 صفحه 3 از 3	روش تعیین حجم لوپ	 آزمایشگاه مرجع سلامت
---------------------------------------	--------------------------	---

۸- با قرار دادن میانگین جذب بدست آمده از لوپ کنترل، روی محور عمودی می‌توان ضریب رقت لوپ کنترل را از روی محور افقی بدست آورد.

جهت تعیین تعداد کلنی در هر میلی‌لیتر ادرار، باید تعداد کلنی‌های بدست آمده از کشت روی پلیت را در عکس ضریب رقت لوپ، ضرب کرد. بطور مثال اگر ضریب رقت لوپ مجهول ۱/۱۰۰ و تعداد کلنی‌های روی پلیت ۵۰۰ عدد باشد، باید ۵۰۰ را در ۱۰۰ ضرب و نتیجه را بصورت $50/000 \text{ cfu/ml}$ گزارش نمود.

روشهای دیگری نیز برای بررسی میزان حجم برداشتی توسط لوپ باکتریولوژی وجود دارد که از بین آنها می‌توان 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 می‌گردد.