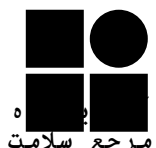


1 از 3 صفحه	دستور العمل فني	 مرجع سلامت
	روش تعیین حجم لوپ	

## 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 می‌بایست همواره از لوپهای کالیبره جهت کشت نمونه‌های ادراری استفاده و تعداد کلنی‌های موجود در هر میلی‌لیتر ادرار (CFU/ml) را گزارش نماید.

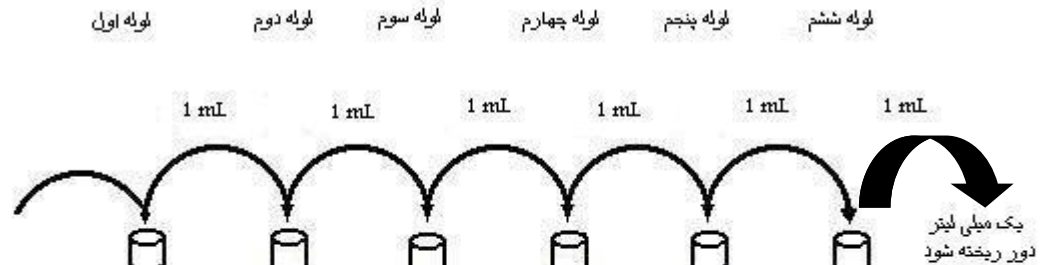
برای بررسی حجم لوپ از روشهایی مانند رنگسنجی و توزین استفاده می‌شود. ساده ترین روش برای بررسی حجم لوپ استفاده از روش رنگسنجی از طریق اسپکتروفتومتر یا فتومتر به کمک مواد رنگی مانند متیلن بلو، کریستال ویوله و اوانس بلو می‌باشد. در این دستورالعمل روش رنگسنجی با استفاده از اوانس بلو توضیح داده شده است. در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


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

- 1- پودر اوانس بلو (Evans Blue). این ماده به صورت پودر تجاری قابل‌دسترس بوده و به آسانی در آب حل می‌شود.
- 2- آب مقطر
- 3- لوله آزمایش
- 4- پیپت یا سمپلر
- 5- اسپکتروفتومتر یا فتومتر کالیبره
- 6- کاغذ میلیمتری

### روش انجام

- 1- 20mg از پودر رنگی اوانس بلو را در 10 میلی لیتر آب حل نمایید. غلظت این محلول 0.2g/100 می‌باشد.
- 2- 6 لوله آزمایش انتخاب کرده، در لوله اول 2ml و در هر یک از لوله‌های باقیمانده 1ml آب مقطر بریزید. 20 لاند (0.02 ml) از محلول ذخیره 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 دهید. در انتها یک میلی لیتر از لوله ششم را برداشته و دور بریزید. به این ترتیب 6 محلول خواهید داشت که رقت نهایی بدست آمده در هر یک و میزان ماده رنگی موجود در آن بشرح زیر خواهد بود.



2 از 3 صفحه	دستور العمل فني	
	روش تعیین حجم لوپ	

20λ از محلول ذخیره  
0.2g/100

رقت

مقدار ماده رنگی                      10λ   5 λ                      2.5λ                      1.25λ                      0.625λ                      0.3125λ

3- میزان جذب نوري (OD) هر يك از 6 محلول حاصله را به كمك اسپكتروفتمتر در طول موج 620nm بدست آورید.

4- جهت تعیین حجم لوپ مورد بررسی ، 10 لوله آزمایش برداشته و در هر يك 1 میلی‌لیتر آب مقطر بریزید.


5- لوپ تحت کنترل را بطور كاملا عمودي وارد محلول ذخیره اولیه نموده ، از محلول رنگی برداشته و در لوله‌های آزمایش فرو برید . این کار را 10 بار تکرار و در فواصل لوپ را روی کاغذ خشک کن قرار دهید تا كاملا خشک شود. از سوزاندن لوپ خودداری نمایید.

6- بعد از مخلوط کردن ، جذب هریک از لوله‌ها را در طول موج 620nm قرائت نمایید.

7- بر روی کاغذ میلی‌متری نموداری ترسیم نمایید که در آن ، محور افقی نشانگر رقت‌های تهیه شده و محور عمودی نمایانگر جذب نوري هر رقت باشد.

8- با قرار دادن میانگین جذب بدست آمده از لوپ کنترلی، روی محور عمودی می‌توان ضریب رقت لوپ کنترلی 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 1/100 و تعداد کلنی‌های روی پلیت 500 عدد باشد ، باید 500 را در 100 ضرب و نتیجه را بصورت cfu/ml 50/000 گزارش نمود.

3 از 3 صفحه	دستورالعمل فني	
	روش تعیین حجم لوپ	

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, 5<sup>th</sup> 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.