

بسته‌های

برای شمارش کلنی های بدست آمده از کشت نمونه های بالینی بویژه ادرار به منظور تشخیص عفونت لازم است از لویپهای استاندارد با حجم معین استفاده شود. آزمایشگاه می بایست همواره از لویپهای کالیبره جهت کشت نمونه های ادرار استفاده و تعداد کلنی های موجود در هر میلی لیتر ادرار (CFU / ml) را گزارش نماید .

برای بررسی حجم لوپ از روشهایی مانند رنگ سنجی و توزین استفاده می شود . ساده ترین روش برای بررسی حجم لوپ استفاده از روش رنگ سنجی از طریق اسپکتروفتومتر یا فتومتر به کمک مواد رنگی مانند متیلن بلو ، کریستال ویوله و اوانس بلو می باشد. در این دستور العمل روش رنگ سنجی 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 قابل دسترس بوده و به آسانی در آب حل می شود.

۲- آب مقطر

۳- لوله آزمایش

۴- پیپت یا سمپلر

۵- اسپکتروفتومتر یا فتومتر کالیبره

۶- کاغذ میلی متری

روش انجام :

۱- 20 mg از پودر رنگی اوانس بلو را در ۱۰ میلی لیتر آب حل نمائید . غلظت این محلول 0.2g / 100 می باشد.

۲- شش لوله آزمایش انتخاب کرده ، در لوله اول 2 ml و در هریک از لوله های باقیمانده 1 ml آب مقطر بریزید. 20 لاند (0.02 ml) از محلول ذخیره اولیه (0.2g / 100) برداشته در لوله اول ریخته و کاملاً مخلوط نمائید . سپس یک میلی لیتر 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 شش محلول خواهید داشت که رقت نهایی بدست آمده در هریک و میزان ماده رنگی موجود در آن بشرح تصویر صفحه بعد خواهد بود.

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

۴- جهت تعیین حجم لوپ مورد بررسی ، ۱۰ لوله آزمایش برداشته و در هریک یک میلی لیتر آب مقطر بریزید .

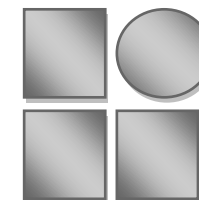
۵- لوپ تحت کنترل را بطور کاملاً عمودی وارد محلول ذخیره اولیه نموده ، از محلول رنگی برداشته و در لوله های آزمایش فرو برید . این کار را ۱۰ بار تکرار و در فواصل لوپ را روی کاغذ خشک کن قرار دهید تا کاملاً خشک شود. از سوزاندن لوپ خودداری نمائید.

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



دانشگاه علوم پزشکی قم

معاونت درمان



آزمایشگاه رفرنس استان قم

روش تعیین حجم لوپ

زمستان ۱۳۸۷

(۵)

۷- بر روی کاغذ میلی متری نموداری ترسیم نمائید که در آن محور افقی نشانگر رقت‌های 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 می‌توان 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. بطور 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 بصورت ۵۰/۰۰۰ cfu/ml گزارش نمود.

روش توزین: در این روش ترازوی حساس با دقت ۰/۰۰۱ گرم مورد نیاز است و از آنجا که وزن و حجم آب مقطر خالص مساوی هستند می‌توان به کمک لوپ از آب مقطر برداشت کرد و بر روی یک دیسک آنتی بیوگرام قرار داد و با توزین توسط ترازو مقدار حجم برداشتی را محاسبه کرد. در این روش ابتدا دیسک آنتی بیوگرام توزین می‌شود سپس مقدار افزایش وزن بر اثر برداشت آب مقطر توسط لوپ محاسبه می‌گردد. اگر این عمل را ۱۰-۱۵ بار تکرار کرده و میانگین افزایش وزن را ثبت کنیم حجم برداشتی توسط لوپ به دست خواهد آمد.

منابع:

1- koneman color Atlas and textbook of Diagnostic Microbiology :Fifth Edition;Williams &Wilkins ; 1997

2- Basic laboratory procedures in clinical Bacteriology : 1992

آزمایشگاه رفرنس - تلفن: ۲۹۱۷۳۷۶ فاکس: ۲۹۰۳۹۳۶

E- mail : reference_lab@ muq.ac.ir

