

مراجع:

دکتر حسین دارآفرین، مجموعه از مستندات سیستم مدیریت کیفیت در آزمایشگاه پزشکی - انجمن علمی آسیب‌شناسی ایران، آزمایشگاه مرجع سلامت - ۱۳۸۸.

تعیین حجم لوپ در آزمایشگاه میکروپزشناسی به روش رنگ‌سنجی اوانس‌بلو

نام فرآورده	رنگ آماده مصرف اوانس‌بلو (Evans Blue) بهارافشان جهت کنترل کیفی ظرفیت حجمی لوپ میکروپزشناسی
اساس آزمایش	تعیین حجم یا ضریب رقت لوپ با استفاده از رنگ‌سنجی ماده رنگی اوانس‌بلو بر اساس تعیین میزان جذب نوری آن در طول موج ۶۲۰ nm
موارد کاربرد	لوپ استاندارد با حجم معین برای شمارش کلی در نمونه‌های بالینی به‌ویژه ادرار ضروری است. آزمایشگاه‌ها باید از لوپ‌های کالیبره برای کشت ادرار استفاده کنند و تعداد کلی‌های موجود در هر میلی‌لیتر ادرار (CFU/ml) را گزارش نمایند.
روش کاربرد	ساده‌ترین روش برای تعیین حجم لوپ استفاده از روش رنگ‌سنجی با محلول Evans Blue است.
موارد احتیاط	فرآورده فقط برای مصرف در آزمایشگاه است و مصرف دارویی، درمانی و غیره را ندارد.
شرایط نگهداری	حمل و نقل و نگهداری در دمای اتاق (۱۸ تا ۲۵ درجه) است.

علائم جهانی مربوط به فرآورده‌های تشخیص آزمایشگاهی

IVD	in-vitro diagnostic use only	فقط برای مصرف در آزمایشگاه
REF	Product Code	شماره سفارش فرآورده
LOT	Lot Number	شماره ساخت فرآورده
	Use by/ Expiry date	تاریخ پایداری
	Store at	درجه حرارت نگهداری فرآورده
	Consult instructions for use	برای روش استفاده فرآورده با سازنده تماس بگیرید

www.bird-bahar.com
E-mail: bahar@bird-bahar.com

پژوهشی و تولیدی



بهارافشان

Loop accuracy certified
using Evans Blue Dye
Method



تعیین حجم لوپ میکروپزشناسی به روش رنگ‌سنجی با استفاده از (Evans Blue)

کلیات:

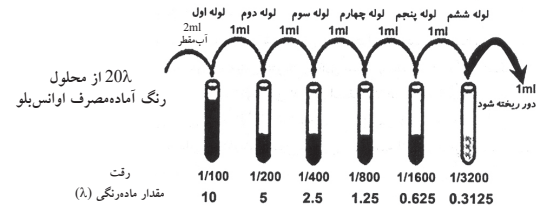
لوپ میکروپزشناسی از جنس‌های متفاوت ساخته می‌شود و معمول‌ترین آن‌ها پلاتین، نیکل و کروم است. به‌طور کلی لوپ باید از فلزی باشد که به‌سادگی شکل‌پذیر بوده و بر اثر سرد و گرم شدن مکرر خراب نشود. سر لوپ باید به‌شکل دایره پیچیده شود و در محل تماس شروع دایره و میله نباید فاصله ایجاد شود. باتوجه به اینکه علاوه بر قطر دایره لوپ عوامل دیگری همچون جنس لوپ و قطر میله در تعیین حجم حلقه مؤثر می‌باشد. اندازه‌گیری حجم لوپ (کنترل صحت آن) در شروع و ادامه کار لازم است. همچنین باتوجه به تغییر قطر لوپ در استفاده‌های بعدی، در فواصل زمانی مناسب باید نسبت به تعویض آن اقدام شود. در حال حاضر لوپ‌های با حجم مشخص به‌صورت آماده نیز وجود دارد که می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. لوپ را باید به‌طور عمودی وارد محلول کرد زیرا به‌دلیل کشش سطحی مایعات در صورت غیر عمودی وارد کردن به محلول حجم مایع حلقه تغییر می‌کند.

* کنترل صحت یا روش تعیین حجم لوپ

استفاده از لوپ با حجم معین برای شمارش کلنی‌های به‌دست آمده از کشت نمونه‌های بالینی به‌ویژه ادرار به‌منظور تشخیص عفونت واقعی ضروری است. لذا آزمایشگاه‌ها همواره باید از لوپ‌های کالیبره برای کشت نمونه‌های ادراری استفاده نمایند و به‌کمک آن تعداد کلنی‌های موجود در هر میلی‌لیتر ادرار (CFU/ml) را محاسبه و گزارش کنند. روش رنگ‌سنجی: ساده‌ترین روش برای بررسی حجم لوپ است.

* تعیین حجم لوپ با استفاده از ماده رنگی اوانس‌بلو

ابزار و مواد موردنیاز تعیین حجم لوپ با استفاده از ماده رنگی اوانس‌بلو به‌شرح زیر است:
 * رنگ آماده مصرف اوانس‌بلو (Evans Blue)، بهارافشان.
 آب مقطر - لوله آزمایش - پی‌پت یا سمپلر - اسپکتروفتومتر یا فتومتر کالیبره - کاغذ میلی‌متری



روش انجام آزمایش:

۱. شش لوله آزمایش انتخاب کرده، در لوله اول 2ml و در هر یک از لوله‌های باقی‌مانده 1ml آب مقطر بریزید. 20 میکرولیتر از رنگ آماده مصرف اوانس‌بلو بهارافشان 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 میلی‌لیتر از لوله ششم را برداشته و دور بریزید. به این ترتیب شش محلول ذخیره خواهید داشت که رقت نهایی به‌دست آمده در

هریک و میزان ماده رنگی موجود در آن مشخص خواهد بود.

۲. میزان جذب نوری (OD) هر یک از شش محلول حاصله را به کمک اسپکتروفتومتر در طول موج 620nm به‌دست آورید.

۳. بر روی کاغذ میلی‌متری نموداری ترسیم نمایید. که در آن، محور افقی نشانگر رقت‌های تهیه شده و محور عمودی نمایانگر جذب نوری هر رقت در شش لوله فوق باشد.

۴. برای تعیین حجم لوپ موردکنترل، در ده لوله آزمایش یک میلی‌لیتر آب مقطر بریزید.

۵. لوپ موردنظر را به‌طور کاملاً عمودی وارد محلول رنگ اوانس‌بلو آماده مصرف بهارافشان نموده و در لوله اول فرو برده، کاملاً مخلوط کنید.

سپس لوپ را روی کاغذ خشک‌کن قرار دهید تا کاملاً خشک شود. از سوزاندن لوپ خودداری نمایید. این عمل را برای ده لوله، تکرار کنید.

۶. سپس، جذب هر یک از لوله‌ها را در طول موج 620nm قرائت نمایید؛ میانگین جذب ده محلول فوق را محاسبه کنید.

۷. با قرار دادن میانگین جذب نوری ده خوانده لوپ موردنظر بر روی محور عمودی می‌توان ضریب رقت لوپ را، از روی محور افقی به‌دست آورد.

۸. برای تعیین تعداد کلنی در هر میلی‌لیتر ادرار، باید تعداد کلنی‌های به‌دست آمده از کشت روی پلیت را در عکس ضریب رقت لوپ، ضرب کرد. به‌طور مثال اگر ضریب رقت لوپ 1/200 و تعداد کلنی‌های روی پلیت 50 عدد باشد، باید 50 را در 200 ضرب و نتیجه را به‌صورت 10000 CFU/ml گزارش نمود.

نگهداری:

به‌محض مشاهده شکاف یا تغییر قطر سیم لوپ باید آن را تعویض کرد و مجدداً ضریب رقت لوپ را تعیین نمود.

ایمنی:

* در موقع سترون کردن لوپ باید از قراردادن سریع آن بر روی شعله به‌علت ایجاد ذرات آئروسول خودداری نمود.

بهرتر است ابتدا لوپ به قسمت قاعده شعله (که پایین‌ترین درجه حرارت شعله را داراست) وارد شده و تدریجاً به نوک شعله انتقال یابد.

* از داخل کردن لوپ داغ به داخل سوسپانسیون میکروبی باید اجتناب کرد.

