

## دستورالعمل فنی لوپ\*

### کلیات

لوپ معمولاً برای انتقال سوسپانسیون حاوی میکروب به محیط کشت به کار می‌رود به نحوی که بتوان کلنی (پرگنه)های رشد یافته را شمارش کرد. کنترل کیفی و در صورت نیاز، ساختن لوپ در بخش میکروبی‌شناسی و توسط مسئول بخش صورت می‌گیرد.

### چگونگی کاربری

لوپ میکروبی‌شناسی 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 به شکل دایره پیچیده شود و در محل تماس شروع دایره و میله نباید فاصله ایجاد شود.

با توجه به اینکه علاوه بر قطر دایره سر لوپ عوامل دیگری همچون جنس لوپ و قطر میله مورد استفاده در تعیین گنجایش حلقه موثر می‌باشند، اندازه‌گیری ظرفیت حجمی لوپ (کنترل صحت آن) در شروع و ادامه کار لازم است. همچنین با توجه 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 به علت کشش سطحی مایعات در صورت غیر عمود بودن حجم مایع حلقه به‌طور کاذب تغییر می‌کند.

### کنترل کیفیت لوپ

#### • کنترل صحت یا روش تعیین حجم لوپ

استفاده از لوپ استاندارد با حجم معین جهت شمارش کلنی‌های به دست‌آمده از کشت نمونه‌های بالینی به ویژه ادرار به منظور تشخیص عفونت واقعی ضروری است. لذا آزمایشگاه‌ها همواره باید از لوپ‌های کالیبره جهت کشت نمونه‌های ادراری استفاده نمایند و به کمک آن تعداد کلنی‌های موجود در هر میلی‌لیتر ادرار (CFU/mL) را محاسبه و گزارش کنند. برای بررسی حجم لوپ از روش‌هایی مانند رنگ‌سنجی، توزین و مقایسه آنالیت خاص توسط لوپ و سمپلر کالیبره، استفاده می‌شود.

---

\* فرهنگستان زبان و ادب فارسی واژه میل حلقه را جایگزین واژه لوپ نموده است.

الف) روش رنگ‌سنجی: ساده‌ترین روش برای بررسی حجم لوپ استفاده از روش رنگ‌سنجی با استفاده از اسپکتروفوتومتر یا فتومتر به کمک مواد رنگی مانند متیلن‌بلو، کریستال ویوله و اوانس‌بلو است. در این بخش روش رنگ‌سنجی با استفاده از اوانس‌بلو و مقایسه حجم منتقله توسط لوپ با سمپلر توضیح داده می‌شود.

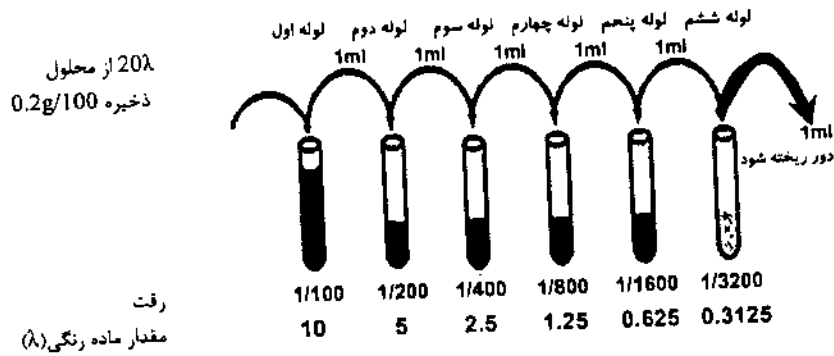
۱- مقایسه حجم منتقله توسط لوپ یا سمپلر استاندارد و واریسی شده به روش رنگ‌سنجی در پنج لوله تمیز و خشک ۳ml آب مقطر ریخته و با لوپ مجهول از یک محلول رنگی (رنگ سبز خوراکی، سافرانین رقیق شده، بلودومتیلن، اوانس بلو و غیره) با رعایت نکات ذکر شده، رنگ مورد نظر را به هر یک از آن لوله‌ها اضافه می‌کنیم. با همین روش نیز با کمک سمپلر هم حجم لوپ در پنج لوله حاوی ۳ml آب مقطر محلول رنگی فوق را اضافه می‌کنیم. حال با اندازه‌گیری میانگین جذب آنها در طول موج مشخص (مثلاً ۶۳۰nm برای رنگ سبز خوراکی) و استفاده از رابطه زیر:

$$\text{حجم سمپلر} / \text{میانگین جذب سمپلر} = \text{حجم لوپ} / \text{میانگین جذب لوپ}$$

حجم لوپ را به دست می‌آوریم.

۲- تعیین حجم لوپ با استفاده از ماده رنگی اوانس بلو  
ابزار و مواد مورد نیاز تعیین حجم لوپ با استفاده از ماده رنگی اوانس بلو به شرح زیر است:  
◀ بودر اوانس‌بلو (Evans Blue)، این ماده به صورت بودر تجاری قابل‌دسترس بوده و به آسانی در آب حل می‌شود.

- ◀ آب مقطر
- ◀ لوله آزمایش
- ◀ پی‌پت یا سمپلر
- ◀ اسپکتروفوتومتر یا فتومتر کالیبره
- ◀ کاغذ میلیمتری



### روش انجام:

۱-  $20\text{ mg}$  از یودر رنگی اوانس بلو را در ده میلی‌لیتر آب حل نمایید. غلظت این محلول  $0.2$  گرم درصد است.

۲- شش لوله آزمایش انتخاب کرده، در لوله اول  $2\text{ ml}$  و در هر یک از لوله‌های باقی‌مانده  $1\text{ ml}$  آب مقطر بریزید.  $20$  میکرو لیتر از محلول ذخیره اولیه ( $0.2$  گرم درصد) برداشته در لوله اول ریخته و کاملاً مخلوط نمایید. سپس  $1\text{ ml}$  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 میلی‌لیتر از لوله ششم را برداشته و دور بریزید. به این ترتیب شش محلول ذخیره خواهید داشت که رقت نهایی بدست آمده در هر یک و میزان ماده رنگی موجود در آن مشخص خواهد بود.

۳- میزان جذب نوری (OD) هر یک از شش محلول حاصله را به کمک اسپکتروفتومتر در طول موج  $620\text{ nm}$  به دست آورید.

۴- جهت تعیین حجم لوپ مورد کنترل، در ده لوله آزمایش یک میلی‌لیتر آب مقطر بریزید.

۵- لوپ مورد نظر را به‌طور کاملاً عمودی وارد محلول ذخیره مربوطه نموده و در لوله آزمایش اول (ذخیره) فرو برید. 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- بعد از مخلوط کردن، جذب هر یک از لوله‌ها را در طول موج  $620\text{ nm}$  قرائت نمایید.

۷- 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.

۸- با قرار دادن میانگین جذب نوری ده خواننده لوپ مورد نظر بر روی محور عمودی می‌توان ضریب رقت لوپ را، از روی محور افقی به دست 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. به‌طور 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 به‌صورت  $50/1000\text{ cfu/ml}$  گزارش نمود.

ب و ج: روش‌های توزین و مقایسه سطح اندازه‌گیری شده یک آنالیت توسط لوپ و سمپلر کالیبره شده و سایر روش‌ها را می‌توان به‌کار بست که به علاقمندان توصیه می‌شود جهت آشنایی بیشتر به کتب و منابع معتبر از جمله، *Diagnostic microbiology, Elmer W. Koneman*, 5th edition, page 96 مراجعه نمایند.

### تعمیرات و نگهداری

به محض مشاهده شکاف یا تغییر قطر سیم لوپ باید آن را تعویض کرد.

#### ایمنی

- در موقع سترون کردن لوپ باید از قراردادن سریع آن بر روی شعله به علت ایجاد ذرات آئروسول خودداری نمود.
- بهتر است ابتدا لوپ به قسمت قاعده شعله (که پایین‌ترین درجه حرارت شعله را داراست) وارد شده و تدریجاً به نوک شعله انتقال یابد.
- همچنین از داخل کردن لوپ داغ به داخل سوسپانسیون میکروبی نیز باید اجتناب نمود.