

نگاهی فنی به بالن ژوژه و لوپ (میل حلقه)

(به استاندارد ملی ایران ۱۷۲۸ isiri مراجعه شود) داخل بالن تا خط مینیسک را با توجه به شرایط دمایی و فشار منطقه اندازه بگیرید. این کار را ۳ بار انجام دهید و از فرمول زیر درصد خطا را محاسبه کنید.

$$\bar{v} = m \cdot z$$

$$\text{Bias\%} = \frac{\bar{v} - v}{v} \times 100$$

که در آن:

m ، جرم خوانده شده از ترازو

z ، عامل تصحیح جرم

\bar{v} ، حجم بدست آمده از روش توزین

v ، حجم مورد انتظار فلاسک است.

✓ روش اسپکتروفتومتری: با پی‌پت و بالن ژوژه کالیبره کلاس A، رقت مورد نظر از یک ماده رنگی (مثل دیکرومات پتاسیم) تهیه کرده و به همین شکل، همان رقت را توسط بالن ژوژه مورد نظر به دست آورید. با مقایسه جذب نوری هر دو محلول فوق که در طول موج مناسبی خوانده شده، میزان عدم صحت را به‌دست آورید. توالی زمانی انجام آزمون کنترل صحت مشابه پیپت است.

❖ کنترل دقت

با توجه به موارد ذکر شده درخصوص پی‌پت، بالن ژوژه نیز نیازی به اندازه‌گیری عدم دقت ندارد.

کالیبراسیون

بهتر است حداقل سالانه یک بار کالیبراسیون بالن ژوژه توسط شرکت‌های معتبر انجام گیرد.

فلاسک‌های آزمایشگاهی بر دو نوع است که نوع اول آن فلاسک حجمی یا بالن ژوژه و نوع دوم ارلن مایر نام دارد. بالن ژوژه از انواع بسیار دقیق وسایل حجمی در آزمایشگاه‌ها است و از ارلن مایر بیشتر برای ساخت محیط استفاده می‌شود.

چگونگی کاربری

از بالن ژوژه برای تهیه محلول‌های با غلظت معین استفاده می‌شود. معمولاً بالن ژوژه در حجم‌های ۲۰۰-۲۰۰۰ میلی‌متر وجود دارد. برای خواندن حجم صحیح باید یک کارت مقوایی که نصف آن سفید و نصف دیگر آن سیاه رنگ است را در پشت بالن ژوژه به صورتی که نیمه سفید آن بالا باشد و نیمه سیاه آن یک میلی‌متر زیر مینیسک باشد قرار دهیم. در این حالت مینیسک ایجاد یک خط سیاه نازک مینماید که به راحتی حجم آن خوانده می‌شود. به‌طور کلی باید در نظر داشت که این فلاسک‌ها به صورت TC است.

در زمان رقیق کردن محلول، باید مرتب محلول مورد نظر را تکان داده تا با یکنواخت شدن محلول، خطای افزایش یا کاهش حجم مایعی که برای رقیق کردن لازم است از بین برود.

نحوه نگهداری

مشابه پی‌پت است.

کنترل کیفی

❖ کنترل صحت:

کنترل صحت با روش‌های وزنی و اسپکتروفتومتری و غیره به شرح زیر صورت می‌گیرد:

✓ روش وزنی: مشابه پی‌پت جرم آب خالص و درجه ۳

ایمنی

- به علت تغییر حجم و شکسته شدن احتمالی، باید از حرارت دادن آن خودداری کرد.
- فلاسک های حجمی (بالن ژوزه) را نباید برای نگهداری محلول های خورنده به کار برد.
- درب بالن باید کاملاً بسته باشد تا محلول هنگام مخلوط کردن نشکند.

دستورالعمل فنی استوانه مدرج

چگونگی کاربری

استوانه مدرج برای اندازه گیری و انتقال محلول در حجم های ۱۰۰-۱۵۰۰ میلی لیتر به کار می رود. در زمان خواندن حجم محلول مصرفی، دیدن پایین ترین سطح مایع و استقرار ظرف به صورت عمودی الزامی است.

نحوه نگهداری، نظافت و ایمنی

مشابه بالن ژوزه و پی پت است.

کنترل کیفی

مشابه کنترل کیفی بالن ژوزه و پی پت است و باید کنترل صحت آن حداقل در چهار حجم مختلف صورت پذیرد.

دستورالعمل فنی لوپ (میل حلقه) کلیات

لوپ معمولاً برای انتقال حجم مشخصی از محلول حاوی میکروب به محیط کشت به کار می رود تا بتوان کلنی (پرگنه) های رشد یافته را شمارش کرد. کنترل کیفی و در صورت نیاز، ساختن لوپ در بخش میکروبی شناسی و توسط مسوول بخش صورت می گیرد.

چگونگی کاربری

لوپ میکروبی شناسی از جنس های متفاوت ساخته می شود و معمول ترین آنها پلاتین، نیکل و کروم است. به طور کلی لوپ باید از جنس فلز باشد که به سادگی شکل پذیر بوده و در اثر سرد و گرم شدن مکرر خراب نمی شود. سرلوپ 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 است، اندازه گیری ظرفیت حجمی لوپ (کنترل صحت آن) در شروع و ادامه کار لازم است. همچنین با توجه به تغییر قطر لوپ در استفاده های بعدی، در فواصل زمانی مناسب باید نسبت به تعویض آن اقدام شود.

در حال حاضر لوپ های با حجم مشخص به صورت آماده نیز وجود دارد که می تواند مورد استفاده قرار گیرد. لوپ را باید به طور عمودی وارد محلول کرد زیرا به علت کشش سطحی مایعات در صورت غیرعمود بودن حجم مایع حلقه به طور کاذب تغییر می کند.

کنترل کیفی لوپ

• کنترل صحت یا روش تعیین حجم لوپ

استفاده از لوپ استاندارد با حجم معین جهت شمارش کلنی های به دست آمده از کشت نمونه های بالینی به ویژه ادرار به منظور تشخیص عفونت واقعی ضروری است. لذا آزمایشگاه ها همواره باید از لوپ های کالیبره جهت کشت نمونه های ادراری استفاده نمایند و به کمک آن تعداد کلنی های موجود در هر میلی لیتر ادرار (CFU/mL) را محاسبه و گزارش کنند.

برای بررسی حجم لوپ از روش هایی مانند رنگ سنجی، توزین و مقایسه آنالیت خاص توسط لوپ و سمپلر کالیبره، استفاده می شود.

❖ روش رنگ سنجی

ساده ترین روش برای بررسی حجم لوپ استفاده از روش رنگ سنجی با استفاده از اسپکتروفتومتر یا فتومتر به کمک مواد رنگی مانند متیلن بلو، کریستال ویوله و اوانس بلو است. در این بخش روش رنگ سنجی با استفاده از اوانس بلو و مقایسه حجم منتقله توسط لوپ با سمپلر توضیح داده میشود. در صورت استفاده از سایر مواد رنگی، بایستی طول موج و جذب نوری ویژه همان ماده به کار برده شود.

✓ مقایسه حجم منتقله توسط لوپ با سمپلر استاندارد و کالیبر شده به روش رنگ سنجی

در پنج لوله تمیز و خشک ۳ میلی لیتر 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 لوله ها اضافه کنید. با همین روش نیز با کمک سمپلر هم حجم لوپ در پنج لوله حاوی ۳ میلیلیتر آب مقطر محلول رنگی فوق را اضافه کنید. حال با اندازه گیری میانگین جذب آنها در طول موج مشخص (مثلاً ۶۳۰nm برای رنگ سبز خوراکی) و استفاده از رابطه زیر:

حجم سمپلر / میانگین جذب سمپلر = حجم لوپ / میانگین جذب لوپ

حجم لوپ را به دست آورید.

✓ تعیین ضریب رقت لوپ با استفاده از ماده رنگی اوانس بلو

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

رنگی اوانس بلو

➤ پودر اوانس بلو (Evans Blue)، این ماده به صورت پودر تجاری قابل دسترس بوده و به آسانی در آب حل می شود.

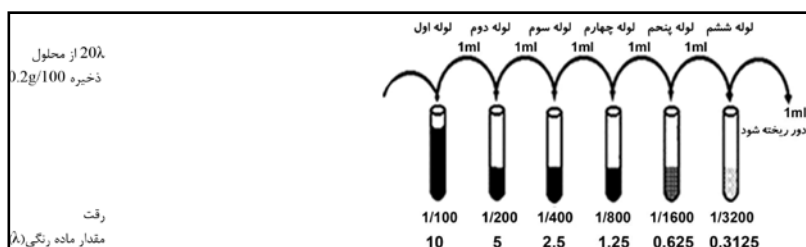
➤ آب مقطر

➤ لوله آزمایش

➤ پیپت یا سمپلر

➤ اسپکتروفتومتر یا فتومتر کالیبره

کاغذ میلیمتری



شکل ۱: میزان رقت و حجم ماده رنگی در عملیات رقیق سازی

روش انجام

✓ ۲۰ میلیگرم از پودر رنگی اوانس بلو را در ۱۰ میلیلیتر آب حل نمایید. غلظت این محلول ۰/۲g/۱۰۰ است.

✓ ۶ لوله آزمایش انتخاب کرده، در لوله اول ۲ میلیلیتر و در هر یک از لوله های باقیمانده ۱ میلیلیتر آب مقطر بریزید. ۲۰ لاند (۰/۰۲ میلیلیتر) از محلول ذخیره اولیه (۰/۲g/۱۰۰) برداشته در لوله اول ریخته و کاملاً مخلوط نمایید. سپس ۱ 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 ۶ محلول خواهید داشت که رقت نهایی بدست آمده در هر یک و میزان ماده رنگی موجود در آنها در شکل ۵-۱ نشان داده شده است.

✓ میزان جذب نوری (OD) هر یک از ۶ محلول حاصله را به کمک اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۳۰nm بهدست آورید.

✓ جهت تعیین حجم لوپ مورد بررسی، ۱۰ لوله آزمایش برداشته و در هر یک ۱ میلی لیتر آب مقطر بریزید.

✓ لوپ تحت کنترل را به طور کاملاً عمودی وارد محلول ذخیره اولیه کرده، 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 کنید.

✓ بعد از مخلوط کردن، جذب هریک از لوله ها را در طول موج ۶۲۰nm بخوانید.

✓ بر روی کاغذ میلی متری، نموداری رسم کنید که در آن، محور افقی نشانگر رقت های تهیه شده و محور عمودی نمایانگر جذب نوری هر رقت باشد.

✓ با قرار دادن میانگین جذب به دست آمده از لوپ کنترلی، روی محور عمودی می توان ضریب رقت لوپ کنترلی را از روی محور افقی به دست آورد.

جهت تعیین تعداد کلنی در هر میلی لیتر ادرار، باید تعداد کلنی های به دست آمده از کشت روی پلیت را در عکس ضریب رقت لوپ، ضرب کرد. به طور 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 به صورت ۵۰/۱۰۰۰ cfu/ml گزارش کرد.

❖ روش توزین

علاوه بر روش رنگسنجی، یکی دیگر از روشهایی که برای بررسی میزان حجم برداشتی توسط لوپ باکتریولوژی وجود دارد، روش توزین است که در آن با استفاده از ترازوی بسیار حساس، تغییرات وزن دیسک کاغذی بعد از افزودن یک لوپ آب مقطر روی آن، محاسبه می شود.

برای مطالعه بیشتر به کتب و منابع معتبر از جمله- Diagnos-
tic microbiology, Elmer W.Koneman, 5th edition, page 96
مراجعه شود.

نحوه نگهداری و تعمیرات

به محض مشاهده شکاف در محل اتصال حلقه یا تغییر
قطر سیم لوپ باید آن را تعویض کرد.

❖ مقایسه سطح اندازه‌گیری شده آنالیت خاص توسط لوپ و سمپلر کالیبره

در ادامه تعیین ضریب لوپ به روش مقایسه سطح اندازه‌گیری
شده قند خون توسط لوپ و سمپلر کالیبره بیان می‌شود.

ایمنی

✓ در زمان سترون کردن لوپ، باید از قراردادن سریع
آن بر روی شعله به علت ایجاد ذرات آئروسول خودداری
کرد.

بهرتر 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 کرد.

روش انجام کار

در پنج لوله تمیز هر کدام ۱ میلی لیتر محلول اندازه‌گیری
قند ریخته و با لوپ مجهول با رعایت نکات لازم و ملاحظات
ایمنی، استاندارد قند و یا یک نمونه سرم را به لوله‌ها منتقل
کنید. سپس با همین روش و با استفاده از سمپلر استاندارد و
کالیبر شده مقدار ۱۰ میکرولیتر از همان نمونه (استاندارد یا
سرم) را به ۵ لوله دیگر منتقل نمایید.

میانگین جذب نوری را برای هر گروه از لوله‌ها در طول
موج مشخص شده در کیت به دست آورده و با استفاده از
رابطه زیر ضریب لوپ را مشخص کنید.

میانگین جذب نوری لوپ / میانگین جذب نوری سمپلر $\times 100 =$ ضریب

فرم اشتراک ماهنامه تشخیص زیست‌شیمی ۱۳۹۵

نام و نام خانوادگی: رشته/تخصص: کد ملی:
نام محل کار: مسئولیت:
نشانی:
کدپستی: تلفن: فاکس:
موبایل: ایمیل:

❖ تکمیل تمام موارد فوق الزامی است ❖

اشتراک ۶ ماهه (با پست عادی) ۴۸۰,۰۰۰ ریال

اشتراک ۶ ماهه (با پست سفارشی) ۶۰۰,۰۰۰ ریال

اشتراک یکساله (با پست عادی) ۹۶۰,۰۰۰ ریال

اشتراک یکساله (با پست سفارشی) ۱,۲۰۰,۰۰۰ ریال

مبلغ اشتراک یکساله خارج از کشور با پست سفارشی ۳۶۰ دلار است.

لطفاً برای شروع یا تمدید اشتراک، رسید فیش واریزی را همراه با فرم تکمیل شده فوق به شماره زیر فاکس نمایید.

کارت بانک پاسارگاد به شماره کارت ۵۰۲۲-۲۹۱۰-۴۰۷۲-۹۱۵۲ و شماره حساب ۱-۱۲۰۸۴۲۳۴-۸۰۰۰-۲۰۶ به نام آقای محمود اصلانی

تلفن: ۰۹۱۲۷۳۳۳۴۰۷

نمبر: ۸۹۷۷۶۷۶۹

ایمیل: matashkhis@gmail.com