

کنترل کیفی و کالیبراسیون لوپ میکروب شناسی

مقدمه: از بین وسایل مورد استفاده در بخش میکروب شناسی لوپ میکروب شناسی از جمله ابزارهای مهم و اصلی بوده و ارزش آن همانند پی پت در آزمایشگاه بیوشیمی و سرولوژی است. بدین معنی که اگر از مقدار برداشت شده توسط لوپ محاسبه دقیق به عمل نیاید در گزارش نتایج آزمایش تاثیر زیادی خواهد داشت. لذا به سبب عدم وجود روش استاندارد جهت کالیبراسیون لوپ و نظر به اهمیت آن در این مقاله سعی شده است که راه کارهای مناسب و عملی برای کالیبراسیون لوپ میکروب شناسی ارائه گردد. در بررسی انجام شده دو روش محاسبه حجم توسط روش اسپکتروفتومتری و روش استفاده از ترازو مورد ارزیابی قرار گرفته اند.

روش بررسی: در این تحقیق حجم برداشت شده توسط دو نوع لوپ مورد مصرف که تحت عنوان لوپ های تجاری در بازار موجود بوده و به عنوان لوپ ۰.۰۱ و لوپ ۰.۰۰۱ استفاده میشوند مورد بررسی قرار گرفت و نیز با توجه به اینکه برخی از آزمایشگاه های تشخیص پزشکی لوپ های دست ساز را که با استفاده از پیچیدن سیم به دور دسته فلزی لوپ تهیه می شوند مورد استفاده قرار می دهند این نوع لوپ ها نیز به دو روش اسپکتروفتومتری و توزین مورد ارزیابی قرار گرفتند. همچنین مقدار حجم برداشتی توسط لوپ ها به صورت تخمینی و از طریق ریاضی مورد بررسی قرار گرفت.

الف) روش اسپکتروفتومتری: در این روش از یک ماده رنگی که دارای جذب نوری در طول موج خاص است استفاده می گردد. معمولاً از ماده رنگی اوانس بلو برای این آزمایش استفاده میشود اما با توجه به کمبود و گران بودن ماده مزبور در این بررسی از متیلن بلو که از نظر اقتصادی به صرفه بوده و در اکثر آزمایشگاه ها موجود است استفاده شد.

مواد مصرفی و معرف ها شامل موارد زیر بود:

پودر متیلن بلو - الکل طبی ۹۶٪ (اتانول) - آب مقطر - لوپ های ۰.۰۱ و ۰.۰۰۱ و لوپ های دست ساز - لوله آزمایش - پی پت - سمپلر ۲۰ لاند - اسپکتروفتومتر
ابتدا ۰.۲ - ۰.۱ گرم از پودر متیلن بلو را در حلالی که از مخلوط کردن آب مقطر و الکل ۹۶٪ به نسبت ۵۰ به ۵۰ تهیه شده حل می کنیم. پس از حل شدن کامل متیلن بلو در حلال مزبور ۸ لوله آزمایش انتخاب کرده در لوله اول ۲ میلی لیتر و در بقیه لوله ها ۱ میلی لیتر از حلال ساخته شده را می ریزیم. سپس مقدار ۰.۰۲ میلی لیتر از محلول متیلن بلو را به کمک سمپلر کالیبره شده به محلول اضافه کرده و پس از مخلوط کردن ۱ میلی لیتر از محلول مزبور را به لوله دوم انتقال می دهیم و این عمل را تا لوله هشتم پی می گیریم (رقت های سریالی). پس از تهیه رقت های

مزبور جذب نوری هر يك از لوله ها را در طول موج ۶۶۳ نانومتر قرائت کرده و ثبت می کنیم .
با توجه به کاهش تصاعدي رقت لوله ها از کاغذ لگاریتمی برای تهیه منحنی استاندارد استفاده میشود . پس از ترسیم منحنی برای کالیبره کردن لوپ ۱۵-۱۰ لوله برداشته و در هر يك از آنها ۱ میلی لیتر از حلالی که تهیه کرده بودیم می ریزیم و به کمک لوپ از محلول رنگی (متیلن بلو) در لوله ها وارد می کنیم . پس از خواندن جذب نوری آنها در طول موج ۶۶۳ نانومتر و به دست آوردن میانگین جذب نوری و انتقال آن بر روی منحنی مقدار حجم برداشته شده توسط لوپ به راحتی به دست می آید .

از آنجا که مقدار کلنی بر اساس (CFU/ml) گزارش می گردد اگر ۱ میلی لیتر را که برابر با ۱۰۰۰ لاندا می باشد بر حجم به دست آمده تقسیم کنیم ضریب لوپ مجهول به دست خواهد آمد.
ب) 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 می توان 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 می شود سپس مقدار افزایش وزن بر اثر برداشت آب مقطر توسط لوپ محاسبه می گردد . اگر این عمل را ۱۰-۱۵ بار تکرار کرده و میانگین افزایش وزن را ثبت کنیم حجم برداشتی توسط لوپ به دست خواهد آمد.

ج) روش محاسبه ریاضی : در این روش اگر قطر سیم مورد استفاده در ساخت لوپ را توسط میکرومتر اندازه گیری کرده و قطر داخلی حلقه لوله را توسط کولیس محاسبه کنیم حجم برداشتی از طریق محاسبه حجم استوانه به دست می آید . این روش برای محاسبه مقدار برداشتی توسط لوپ چندان دقیق نیست زیرا حجم برداشتی توسط لوپ در مقایسه با روش های استاندارد حجم بیشتری را نشان می دهد و در عمل از آنجا که کشش سطحی بافت باعث می شود مقدار کمتری از محلول در مرکز لوپ قرار گیرد میزان برداشتی نهایی کمتر خواهد بود .
نتیجه بررسی : مقایسه نتایج حاصل از بررسی ۳ روش فوق نشان می دهد که حجم برداشت شده توسط لوپ هایی که به عنوان لوپ تجاری عرضه میشوند استاندارد نیست برای مثال با لوپ تجاری ۰.۰۰۱ مقدار برداشتی لوپ ۰.۶ لاندا می باشد و در مورد لوپ ۰.۰۱ مقدار برداشتی ۲.۴ لاندا است . در نهایت ضریب لوپ ۰.۰۰۱ برابر با ۱۶۶۶.۶۶ و لوپ ۰.۰۱ برابر با ۴۱۶.۶۶ و لوپ دست ساز تقریباً معادل ۳۳۸ است که با مقادیر ادعا شده تفاوت دارند.
نتیجه گیری : با توجه به بررسی های مزبور موارد زیر پیشنهاد میشود :

۱- لوپ هایی که تحت عنوان ۰.۰۱ و ۰.۰۰۱ به صورت تجاری به فروش می رسند استاندارد نبوده و هر آزمایشگاه می باید نسبت به کالیبراسیون و تعیین ضریب دقیق لوپ مصرفی اقدام کند.

۲- در صورت عدم کالیبراسیون لوپ مصرفی شمارش کلنی در کشت ادرا به صورت تخمینی گزارش شود.)

کمتر از ۱۰۰۰ یا ۱۰۰۰۰-۱۰۰۰۰ یا بیشتر از ۱۰۰۰۰)

۳- برای کالیبراسیون لوپ به علت مجهز نبودن اکثر آزمایشگاه ها به ترازوی حساس روش اسپکتروفوتومتری پیشنهاد می شود.

۴- حتی المقدور سعی گردد تا لوپ ها به صورت پلاستیکی و یک بار مصرف تهیه شود.