

## Blood sampling

Christophe Cazaban<sup>1</sup>, Istvan Kiss<sup>2</sup>, Vilmos Palya<sup>2</sup>, Timea Tatár-Kis<sup>2</sup>

, Fernando Lozano<sup>1</sup> and Marcelo Paniago<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Global Veterinary Services / <sup>2</sup>SSIU-Phylaxia

### نحوه جمع آوری نمونه خون

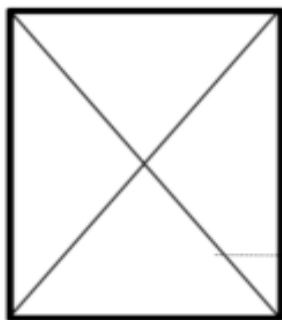
#### توصیه‌های عمومی

نکته کلیدی در اعتماد به نتایج سرولوژی، نحوه صحیح نمونه‌برداری در فارم می‌باشد. جهت نمونه‌برداری آماری صحیح 2 شرط اساسی بایستی اجرا گردد:

#### 1. انتخاب تصادفی پرنده‌ها جهت نمونه‌برداری

- این نکته به معنی داشتن شانس یکسان برای تمامی پرندگان مزرعه جهت انتخاب شدن برای نمونه‌برداری می‌باشد. به طور مثال اگر یکنواختی توزیع واکسن در فارم به خوبی صورت نگیرد، نمونه‌برداری از یک گوشه سبب انحراف در نتایج خواهد شد.
- بایستی یک پروتکل ثابت جهت جمع‌آوری صحیح نمونه‌ها همیشه در دسترس باشد (به شکل شماره 1 مراجعه کنید).

شکل 1- نمونه‌برداری تصادفی در سالن مرغداری به روایت تصویر



بایستی طول خط قطر سالن مشخص گردد و تعداد نمونه مورد نیاز بر اساس طول این خطها جمع‌آوری گردد (به طور مثال اگر طول این خطها هر کدام 60 متر باشد و 24 پرنده برای نمونه‌برداری نیاز داشته باشیم، به ازای هر خط 12 پرنده انتخاب می‌شود و بر روی هر خط به ازای هر 5 متر یک پرنده انتخاب می‌شود).

❖ نکته: اگر نمونه‌برداری از قفس انجام می‌گیرد، بایستی قفس‌ها شماره گذاری شده و براساس تعداد نمونه مورد نیاز از آنان به صورت تصادفی نمونه‌برداری صورت گیرد.

نتایج سرولوژی قابل

اعتماد زمانی به دست

می‌آید که نمونه‌برداری

در فارم به درستی

صورت گرفته باشد

## تعداد مناسب نمونه‌ها:

- نمونه برداری بایستی حتما از پرندگان سالم صورت گیرد، در غیر این صورت نتایج ممکن است منحرف کننده باشند.
- بالا بودن تعداد نمونه‌های خون جمع‌آوری شده ارتباط مستقیم با قابلیت اعتماد به نتایج آن دارد. هر چه تعداد نمونه کمتر باشد احتمال خطا در محاسبه میانگین تیترا گله بالا می‌باشد.
- تعداد 23 الی 24 نمونه خون حداقل تعداد "پیشنهاد شده" جهت یک نمونه‌برداری قابل ارزیابی جهت بررسی ایمنی گله یا تعیین سن واکسیناسیون می‌باشد. حداقل تعداد نمونه "قابل قبول" برای انجام سرولوژی 18 نمونه به ازای هر گله می‌باشد (انتخاب 18 نمونه به ازای هر گله این امکان را می‌دهد تا سرم 5 گله را در یک پلیت الایزا، بدون اتلاف هیچ چاهکی در پلیت، مورد آزمایش قرار داد).
- زمانی که Baseline هر گله یا منطقه مشخص گردید، 15 نمونه نیز می‌تواند روند پاسخ‌های ایمنی گله را نشان دهد که با شناسایی رایج‌ترین گروه تیترا انجام می‌گیرد. با این وجود این تعداد نمونه برای آنالیز کمی کافی نمی‌باشد.
- بهتر است تعداد نمونه خون بیشتری نسبت به تعداد نمونه‌های مورد نیاز دریافت گردد. این اقدام سبب می‌گردد تا تکنسین آزمایشگاه بهترین نمونه‌ها را جهت آزمایش انتخاب کند.

## I. پروسه نمونه‌برداری

- خون‌گیری از ورید بال: این نوع خون‌گیری توسط یک فرد صورت می‌گیرد و فرد عامل هر دو بال پرنده را با یک دست گرفته و با دست دیگر سوزن نمونه‌برداری را نگاه می‌دارد. در صورت وجود پر در ناحیه جهت بهبود شرایط نمونه‌برداری، پرهای ناحیه را کنده تا دید بهتری از محل نمونه‌برداری داشته باشید. محل نمونه‌برداری را با الکل 70 درصد ضدعفونی نمایید. محل ورود سوزن به داخل ورید بایستی میانه ورید بین بازو و مفصل شانه باشد.
- سوزن بایستی با ورید بازویی تنظیم شده و به آرامی ابتدا به زیر پوست سپس به داخل ورید وارد گردد. سر سوزن بایستی به سمت انتهای بال نگه داشته شود تا از خون بازگشتی به سمت قلب نمونه‌برداری را انجام دهد. در این حالت مکش خون به داخل سرنگ تسهیل خواهد شد.
- سطح اوریب سوزن بایستی به سمت بالا باشد. سوزن را بسیار عمقی وارد نکنید. به آرامی پیستون سرنگ را بکشید چرا که ورید پرندگان به آسانی کلاپس می‌کند. اگر هماتوم تشکیل شود، سعی شود نمونه‌برداری از بال دیگر همان پرنده صورت گیرد.
- پس از اتمام کار به محل نمونه‌برداری تا چندثانیه فشار وارد کنید تا خونریزی قطع گردد.

تعداد نمونه‌های خون

دریافتی از گله ارتباط

مستقیم با قابلیت

اعتماد به نتایج آن

دارد. حداقل تعداد

نمونه "پیشنهادی"

جهت ارزیابی دقیق و

صحیح نتایج ایمنی

گله و یا تعیین سن

مناسب واکسیناسیون

23-24 نمونه می‌باشد



### سوراخ کردن ورید بال

- از این روش به عنوان روش ساده تر و سریع نمونه برداری شناخته می شود. با یک اسکالپل می توان ورید بازویی را از بالای مفصل بازو خراش داد تا خون جمع گردد، سپس این خون در داخل یک لوله جمع آوری خون ریخته می شود.
- در این روش احتمال آلودگی باکتریایی یا قارچی نمونه ها بسیار زیاد می باشد.



نمونه برداری به روش

سوراخ کردن ورید بال

و جمع آوری خون

آسان ترین و سریع ترین

روش نمونه برداری

می باشد. با این وجود،

این روش به احتمال

زیاد سبب آلودگی

نمونه با باکتری و قارچ

می گردد

## مواد و روش کار (بدون در نظر گرفتن روش نمونه برداری):

- از یک سوزن 0/5 تا 1 اینچی با گیج 20 تا 23 استفاده کنید. از سوزن بسیار کوچک (همچون گیج 27) استفاده نکنید چرا که می تواند سبب همولیز گردد.
- از یک سرنگ 2.5 سی سی یکبار مصرف استفاده کنید (برای جوجه یکروزه سرنگ 1 سی سی بهتر می باشد).
- حداقل 1 سی سی خون جمع آوری کنید تا حداقل نیم سی سی سرم جدا گردد (به صورت جایگزین، کل حجم خون ایده آل برای روش الیزا 1/5 الی 2 سی سی در کیت سمبیوتیک و 2 الی 3 سی سی در کیت بیوچک می باشد). حجم سرم مورد نیاز بر اساس تعداد و نوع آزمایش های درخواستی بستگی دارد.
- برای انتقال کل خون از سرنگ به لوله آزمایش، جهت جلوگیری از همولیز خون بهتر است سوزن از سرنگ جدا شود تا فشار وارده جهت خروج خون کاهش یابد.
- بهتر است به ازای هر پرند یک سرنگ استفاده شده و پس از نمونه برداری دور انداخته شود.
- از ایجاد کف در خون خودداری کنید. بدین معنی که خون را به آرامی از سرنگ به دیواره لوله آزمایش تخلیه کنید.
- همیشه نمونه ها را به خوبی نام گذاری کنید (نام شرکت، نام گله، سن، نوع پرند و غیره)
- تمامی خون بایستی پس از جمع آوری به صورت افقی یا مایل در دمای اتاق (20 الی 25 درجه یا 37 درجه سانتی گراد) به مدت 1 الی 2 ساعت گذاشته شود تا پس از تشکیل لخته خون سرم آن جدا گردد. نگهداری چند ساعت بیش تر نمونه ها در یخچال می تواند به افزایش جداسازی سرم از خون کمک کند.
- برای جداسازی سرم پرندگان و ایجاد لخته، بایستی خون در 1/2 الی 3/4 سرنگ پر شود و پیستون سرنگ حدودا 1 سانتی متر عقب کشیده شود و در نهایت سرنگ در یک گوشه ای به صورت سرپا گذاشته شود تا تشکیل لخته و جداسازی سرم به خوبی صورت گیرد.
- زمانی که کل خون لخته شد، سرم بایستی از لخته جدا گردد و در یک ظرف دیگر جهت ارسال به آزمایشگاه قرار گیرد. از لوله های شیشه ای یا پلاستیکی استریل با درب های ضد نشت استفاده نمایید (استفاده از روش سانتریفیوژ در صورت امکان در جداسازی سرم از لخته بسیار کمک کننده باشد).
- در تصویر زیر سرم به خوبی از خون جدا شده است و در این مرحله میتوان سرم ها را در یخچال قرار داد (در دمای 2-8 درجه سانتی گراد)



حداقل 1 سی سی

خون جمع آوری کنید

تا حداقل نیم سی سی

سرم جدا گردد. حجم

سرم مورد نیاز به

تعداد و نوع آزمایش

درخواستی بستگی

دارد

## II. توصیه‌های حمل و نقل نمونه‌ها

- در ذخیره‌سازی کوتاه مدت (کمتر از 48 ساعت) جهت انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه سرما را در دمای 2-8 درجه نگه دارید.
- برای نگهداری طولانی مدت، نمونه‌ها را در ویال‌های پلاستیکی ضد نفوذ هوا (لوله‌های میکروسانتریفیوژ 1/5 سی‌سی) در دمای 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری کنید.
- از یخ‌زدگی و آب‌شدگی مکرر نمونه‌ها خودداری کنید.
- از نمونه‌های سرمی‌گندیده (با بوی بد) هرگز استفاده نکنید. این نمونه‌ها دارای آنزیم‌های پروتئولیتیک می‌باشد که ممکن است نتایج الایزا را تحت تاثیر قرار دهند.
- نمونه‌ها نباید در مقابل تابش مستقیم آفتاب باشند.
- در صورت ارسال خون کامل به آزمایشگاه بهتر است در همان روز صورت گیرد. ارسال نمونه‌های خون کامل لخته شده توصیه نمی‌گردد.
- در صورت انتقال هوایی نمونه‌ها، بهتر است جهت نشت مواد و سرما تمامی نمونه‌ها فریز شوند.
- اگر کل خون بسیار سرد یا بسیار گرم شود، گلبول‌های قرمز خون لیز شده و سبب همولیز می‌گردد. نمونه‌های همولیز شده نتایج آزمایش قابل اعتمادی نداشته و برخی از آزمایش‌ها بر روی آن‌ها امکان پذیر نمی‌باشد. سرم‌های به رنگ صورتی می‌توانند نتایج آزمایش الایزا را تحت تاثیر قرار دهند، چرا که این آزمایش یک روش تعیین رنگ محسوب می‌گردد.
- از جمع‌آوری و نگهداری از لخته‌های چربی خون خودداری شود (این موارد اغلب در نمونه‌های سرم گله‌های مادر دیده می‌شود).

اگر کل خون بسیار سرد یا بسیار گرم شود، گلبول‌های قرمز خون لیز شده و سبب همولیز می‌گردد. نمونه‌های همولیز شده نتایج آزمایش قابل اعتمادی نداشته و برخی از آزمایش‌ها بر روی آن‌ها امکان پذیر نمی‌باشد

