



# راهنمای نمونه برداری

در صنعت دام و طیور

اصول نمونه برداری و خطاهای رایج

دکتر محمدرضا اجوری

دکتر بیژن امیدی

دکتر علیرضا خندانی

دکتر پیمان میرفخرایی

دکتر علی مقامی مقیم

دکتر امیرحسین عباسی



نمونه‌برداری دقیق و اصولی، سنگ‌بنای تمام قضاوت‌های علمی و مدیریتی است. کیفیت هر تحلیل، هر گزارش و هر تصمیمی که بر پایه نتایج آزمایشگاهی شکل می‌گیرد، در گرو دقت و صحت نمونه‌ای است که انتخاب و ارسال شده است. کمترین بی‌توجهی در این مرحله می‌تواند نتایج را دچار انحراف کرده و مسیر تصمیم‌گیری را از واقعیت دور سازد. این کتاب با هدف ارائه یک راهنمای ساده، دقیق و در عین حال کاربردی تدوین شده است تا کارشناسان، دامپزشکان، مدیران و تکنسین‌های فعال در واحدهای صنعتی بتوانند به شیوه‌ای استاندارد و هماهنگ، عملیات نمونه‌برداری را انجام دهند. برگه‌ها و بازبینی‌هایی (چک‌لیست) که در این مجموعه طراحی شده‌اند، ابزاری هستند برای ثبت دقیق اطلاعات، کاهش خطا و افزایش شفافیت در فرآیند آزمایش و تفسیر نتایج.



بنام خداوند جان و



راهنمای نمونه برداری

در صنعت دام و طیور

صفحه مشخصات

## شرکت ماکیان نوآور؛

"بیست سال با شما در مسیر موفقیت و نوآوری" فقط یک شعار برای ما نیست؛ واقعیتی است از راهی که با مشتریانمان دوشادوش پیموده‌ایم. ماکیان نوآور به همت و مدیریت دکتر محسن حافظ پایه‌گذاری شد و با اتکا به دانش بومی، انضباط علمی و نگاه آینده‌نگر، به یکی از جریان‌سازان صنعت خوراک دام، طیور و آبزیان بدل شد. ثمره این رویکرد، معرفی طرح «تولید خوراک از ضایعات غلات» به عنوان طرح ملی در سال ۱۳۸۹ و کسب عنوان برترین تولیدکننده استان تهران در سال ۱۳۹۰ بود؛ نقطه عطف‌هایی که مسیر رشد و اعتماد را برای سال‌های بعد هموار کرد.

در قلب فعالیت‌های ما، مهندسی مواد، فناوری و فرآوری نوین قرار دارد. ماکوبنت یا همان بتونیت سدیک- کلسیک با دانه‌بندی‌های متفاوت و مناسب برای مصارف گوناگون در صنعت دام و طیور به روش حرارت‌دهی و فعال‌سازی کنترل‌شده فرآوری می‌شود تا کارکرد آن در خوراک ارتقا یابد و پایه‌ای مطمئن برای تولید افزودنی‌های کارآمد شکل گیرد. گستردگی سبد محصولات از نگهدارنده ضد قارچ و کپک اختصاصی اقلام خوراک و سیلاژ که پایداری و حفظ کیفیت در انبار را تضمین می‌کند، تا افزودنی‌های هدفمند برای بهبود کیفیت پوسته و محتویات تخم‌مرغ و توکسین‌بایندرهای تخصصی به گونه‌ای طراحی شده و به نیاز واقعی واحد پرورش و کارخانجات خوراک پاسخ دهد. در کنار آن، تولید گلوتن ذرت، انواع مکمل و کنسانتره، تامین انواع ریزمغذی‌ها و همچنین مجموعه‌ای کامل از مواد معدنی با مجوزهای سازمان دامپزشکی کشور، زنجیره‌ای یکپارچه از تأمین تا پشتیبانی فنی را کامل می‌کند.

ماکیان نوآور از آغاز با ایجاد شبکه مستقیم و منسجم فروش و توزیع، دسترسی آسان، کیفیت تضمین‌شده و همراهی پایدار را برای مشتریان فراهم کرده است. امروز به‌عنوان مجموعه‌ای پیشرو و عضو فعال انجمن صنفی توزیع‌کنندگان عمده نهاده‌های دامی (فیدا) شناخته می‌شویم؛ اعتباری که بر اعتماد مشتریان، نوآوری مستمر و پایبندی به اصول علمی و اخلاقی بنا شده است.

شرکت آزمون سلامت آسا آزمایشگاه دانش بنیان آسا؛

مجموعه آزمایشگاهی آسا در سال ۱۳۷۷ با بهره‌مندی از دانش کارشناسان ورزشیده و در چارچوب یک مرکز پژوهشی و آزمایشگاهی با فراهم آوردن تجهیزات و فن‌آوری‌های مدرن در حد استانداردهای جهانی با هدف ارتقاء سلامت جامعه به عنوان یکی از قدیمی‌ترین آزمایشگاه‌های بخش خصوصی در زمینه دامپزشکی، آب و پساب مواد غذایی و خاک‌شناسی شروع به فعالیت کرد. امروزه این مجموعه با زیربنای ۶۰۰ متر مربع فضای آزمایشگاهی تیم متخصص متشکل از ۴۰ پرسنل کارآموده با ارائه نتایج صحیح، سریع و دقیق همواره در کنار ارگان‌ها، سازمان‌ها، شرکت‌ها و افراد جامعه قرار گرفته است. خدمات آزمایشگاهی این مجموعه به‌صورت کلی شامل آزمایشگاه‌های شیمی و میکروب‌شناسی در حوزه‌های آب و پساب و مواد غذایی، پایش پساب‌های خروجی در قالب طرح پایش خوداظهاری سازمان حفاظت محیط‌زیست، هیستوپاتولوژی، مولکولی-بیولوژی (PCR)، بخش دستگاهی و آنالیز فلزات سنگین و جستجوی آفلاتوکسین‌ها، اندازه‌گیری عناصر ماکرو و میکرو در خاک، کود و برگ و توصیه کودی و مشاوره‌های کشاورزی می‌باشد. در بخش دامپزشکی، خدمات این مجموعه آزمایشگاهی شامل آزمون‌های تشخیصی سروولوژی طیور، دام بزرگ و کوچک هماتولوژی و بیوشیمی خون، کالبدگشایی، انگل‌شناسی، آزمایشات تشخیصی با روش PCR و تعیین و شناسایی باکتری‌های بیماری‌زا، آزمون‌های پاتولوژی و جستجوی آفلاتوکسین‌ها در خوراک دام و طیور و آبزیان، تعیین ماهیت گوشت بکار رفته در پودرهای گوشت و کنترل بهداشتی اماکن بسته‌بندی و فرآورده‌های خام دامی می‌باشد.

تیم آزمایشگاهی و علمی این مجموعه همواره با هدف مرتفع ساختن نیاز متخصصین و فعالان این حوزه و با به‌روزرسانی روش‌ها و انجام عملیات کنترل کیفی داخلی و خارجی با هدف ارائه نتایج صحیح و دقیق همگام و همسو با صنعت دامپزشکی کشور فعالیت می‌نماید.

در این زمینه آزمایشگاه دانش بنیان آسا همکار و معتمد سازمان حفاظت محیط‌زیست، سازمان غذا دارو، سازمان دامپزشکی کشور، وزارت جهاد کشاورزی، موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، سازمان نظام مهندسی کشاورزی و منابع طبیعی بوده و از سال ۱۳۹۲ موفق به دریافت گواهینامه ISO-IEC ۱۷۰۲۵ از مرکز ملی تأیید صلاحیت ایران نیز شده‌است.

ضمناً این مجموعه از کارگروه ارزیابی شرکت‌ها و موسسات دانش‌بنیان به عنوان شرکت دانش‌بنیان شناخته شده است.

این مجموعه آزمایشگاهی با حفظ اصول و رعایت استانداردهای آزمایشگاهی و با شعار "آسا، افق روشن سلامت در پرتو کیفیت" آینده‌ای روشن و سلامت را برای جامعه متصور خواهد بود.



## فهرست مطالب

مقدمه ..... ۱

### بخش اول: تعریف، اصطلاحات رایج، خطاها و اصول اجرایی نمونه‌برداری ..... ۳

- نمونه‌برداری ..... ۵
- تعریف دسته یا LOT ..... ۵
- اصطلاحات رایج در نمونه‌برداری ..... ۶
- انواع خطا و روش‌های کنترل آن‌ها ..... ۷
- خطای نمونه‌برداری ..... ۷
- خطای همگن‌سازی و کاهش حجم ..... ۷
- خطای تحلیلی ..... ۷
- خطای مستندسازی و انتساب ..... ۷
- خطاهای رایج در ارسال نمونه در ایران ..... ۸
- اصول اجرایی عمومی نمونه‌برداری ..... ۸
- انتخاب نقاط و زمان‌ها ..... ۸
- تعداد نمونه‌های نقطه‌ای و جرم آن‌ها ..... ۹
- همگن‌سازی و کاهش حجم ..... ۹
- جلوگیری از آلودگی و سوگیری ..... ۹
- مستندسازی ..... ۹
- برچسب‌گذاری، کدگذاری و برگه‌ها ..... ۱۰
- راهنمای جرم و مقادیر پیشنهادی ..... ۱۰
- ایمنی و تجهیزات عمومی ..... ۱۱
- خطاهای رایج و راهکارهای اصلاح ..... ۱۱

### بخش دوم: نمونه‌برداری خوراک، غلات، روغن و اسیدهای چرب ..... ۱۳

- نمونه‌برداری خوراک و غلات ..... ۱۵
- تجهیزات و شرایط عمومی ..... ۱۵
- نکات ویژه در خوراک و غلات ایران ..... ۱۵
- تعریف دسته برای خوراک و غلات ..... ۱۶
- روش اجرایی در دیوهای ساکن ..... ۱۶

|                                                       |    |
|-------------------------------------------------------|----|
| روش اجرایی در دیوهای توده‌ای (انباشته یا مخروطی)..... | ۱۶ |
| روش اجرایی در بسته‌های کیسه‌ای.....                   | ۱۷ |
| جریان‌های بارگیری یا تخلیه.....                       | ۱۷ |
| مقدار نمونه نقطه‌ای و نمونه مرکب.....                 | ۱۷ |
| همگن‌سازی و کاهش حجم.....                             | ۱۸ |
| نگهداری و انتقال.....                                 | ۱۸ |
| نکات تکمیلی.....                                      | ۱۸ |
| کنترل کیفیت میدانی.....                               | ۱۹ |
| نمونه‌برداری از روغن‌ها و اسیدهای چرب.....            | ۱۹ |
| انواع روش‌های رایج نمونه‌برداری.....                  | ۲۰ |
| روش دستی (از سطح یا قسمت میانی).....                  | ۲۰ |
| روش نمونه‌برداری با ابزار.....                        | ۲۱ |
| روش تهیه نمونه مرکب.....                              | ۲۱ |
| روش نمونه‌برداری در جریان.....                        | ۲۱ |
| روش نمونه‌برداری نقطه‌ای.....                         | ۲۲ |
| روش نمونه‌برداری دستی تصادفی.....                     | ۲۲ |
| خطاهای رایج و راهکارهای اصلاح.....                    | ۲۲ |

### بخش سوم: نمونه‌برداری از علوفه و سیلاژ..... ۲۳

|                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------|----|
| شرح.....                                                                           | ۲۵ |
| تجهیزات و شرایط عمومی.....                                                         | ۲۵ |
| نمونه‌برداری از علوفه خشک (یونجه، اسپرس، گاه، بسته‌بندی شده).....                  | ۲۵ |
| نمونه‌برداری از علوفه تازه خردشده (مثل ذرت چاپر شده) برای سنجش ماده خشک/ رطوبت.... | ۲۶ |
| تعریف دسته برای سیلاژ.....                                                         | ۲۷ |
| سیلاژ بسته‌بندی شده.....                                                           | ۲۷ |
| سیلاژ فله‌ای (سیلوهای روزمینی یا خندقی).....                                       | ۲۷ |
| تعداد و جرم نمونه‌های نقطه‌ای و نمونه مرکب.....                                    | ۲۸ |
| همگن‌سازی و کاهش حجم.....                                                          | ۲۸ |
| نگهداری و انتقال.....                                                              | ۲۹ |
| نکات اختصاصی براساس نوع آزمون.....                                                 | ۲۹ |
| کنترل کیفیت.....                                                                   | ۲۹ |

خطاهای رایج و راهکارهای اصلاح ..... ۳۰

### بخش چهارم: نمونه‌برداری از خوراک کامل (TMR) ..... ۳۱

شرح ..... ۳۳

تجهیزات و شرایط عمومی ..... ۳۳

طرح نمونه‌برداری در آخور حین توزیع ..... ۳۳

طرح زمان‌محور برای بررسی یکنواختی و مرتب‌سازی (سورت‌کردن) ..... ۳۴

مقدار نمونه‌های نقطه‌ای و نمونه مرکب ..... ۳۴

همگن‌سازی و کاهش حجم ..... ۳۴

نگهداری و انتقال ..... ۳۴

کنترل کیفیت میدانی ..... ۳۵

خطاهای رایج و راهکارهای اصلاح ..... ۳۵

### بخش پنجم: نمونه‌برداری از آب و پساب ..... ۳۷

شرح ..... ۳۹

تعریف دسته و انتخاب نقطه برداشت ..... ۳۹

آماده‌سازی خروجی ..... ۳۹

ظروف مناسب برای نمونه‌برداری آب ..... ۳۹

ویژگی‌های کلی ظروف ..... ۳۹

آماده‌سازی و شست‌وشوی ظروف ..... ۴۰

خنثی‌سازی ترکیبات گندزدا ..... ۴۰

حجم و ظرف نمونه ..... ۴۰

نگهداری و انتقال ..... ۴۱

کنترل کیفیت میدانی ..... ۴۱

روش اجرایی برای آزمون‌های شیمیایی و فیزیکی ..... ۴۱

روش اجرایی برای آزمون‌های میکروبیولوژی ..... ۴۲

نگهداری، انتقال و زمان‌های توصیه‌شده ..... ۴۲

پساب دامداری و الزامات ویژه برای جار تست ..... ۴۲

کنترل کیفیت میدانی ..... ۴۳

خطاهای رایج و راهکارهای اصلاح ..... ۴۳

### بخش ششم: نمونه برداری از شیر و پایش ورم پستان ..... ۴۵

شرح ..... ۴۷

آزمون کالیفرنایی ورم پستان (California Mastitis Test – CMT) ..... ۴۷

مراحل اجرا ..... ۴۷

نمونه برداری عاری از آلودگی برای آزمایشگاه ..... ۴۸

آمادگی و ملزومات ..... ۴۸

مراحل نمونه برداری تک کاردیه و چهار کاردیه ..... ۴۸

نمونه برداری از بالکتانک ..... ۴۹

کنترل کیفیت میدانی ..... ۵۰

خطاهای رایج و راهکارهای اصلاح ..... ۵۰

### بخش هفتم: نمونه برداری از خون ..... ۵۳

شرح ..... ۵۵

انتخاب محل خون گیری ..... ۵۵

تفاوت سرم و پلاسما ..... ۵۵

انتخاب لوله و معنای رنگ ها ..... ۵۶

لوله های بدون ضد انعقاد ..... ۵۶

لوله های دارای ضد انعقاد ..... ۵۶

برچسب گذاری و مستند سازی ..... ۵۶

تطابق نوع لوله با آزمایش ها ..... ۵۷

جمع آوری، لخته شدن، جداسازی و نگهداری نمونه های خون ..... ۵۷

نکات اختصاصی متابولیک پروفایل ..... ۵۸

حمل و نقل ..... ۵۸

کنترل کیفیت میدانی ..... ۵۸

خطاهای رایج و راهکارهای اصلاح ..... ۵۹

نکات کلیدی در نمونه برداری خون ..... ۶۲

### بخش هشتم: نمونه برداری از مدفوع ..... ۶۳

شرح ..... ۶۵

تجهیزات و شرایط عمومی ..... ۶۵

مقدار و تازگی نمونه ..... ۶۵

|    |                                |
|----|--------------------------------|
| ۶۵ | روش نمونه‌برداری متناسب با هدف |
| ۶۶ | نمونه مخلوط (Pool sample)      |
| ۶۶ | برچسب‌گذاری و مستندسازی        |
| ۶۶ | نگهداری و انتقال               |
| ۶۶ | کنترل کیفیت میدانی             |
| ۶۷ | خطاهای رایج و راهکارهای اصلاح  |

#### بخش نهم: نمونه‌برداری از ادرار در گاوهای شیری..... ۶۹

|    |                     |
|----|---------------------|
| ۷۱ | شرح                 |
| ۷۱ | نحوه اخذ نمونه      |
| ۷۱ | حجم و شرایط نگهداری |

#### بخش دهم: نمونه‌برداری از گوش (Ear Notch) برای پایش BVD..... ۷۳

|    |                               |
|----|-------------------------------|
| ۷۵ | شرح                           |
| ۷۵ | هدف و دامنه کاربرد            |
| ۷۵ | تجهیزات و آماده‌سازی          |
| ۷۵ | برچسب‌گذاری و مستندسازی       |
| ۷۵ | روش اجرایی                    |
| ۷۶ | نگهداری و انتقال              |
| ۷۶ | کنترل کیفیت میدانی            |
| ۷۶ | خطاهای رایج و راهکارهای اصلاح |

#### بخش یازدهم: نمونه‌برداری خون در طیور و مرغداری‌ها..... ۷۷

|    |                                       |
|----|---------------------------------------|
| ۷۹ | شرح                                   |
| ۷۹ | اصول انتخاب تصادفی و طرح نمونه‌برداری |
| ۸۰ | تعداد نمونه‌ها و معیارهای انتخاب      |
| ۸۰ | روش اجرایی خون‌گیری از ورید بال       |
| ۸۱ | روش برش سطحی و محدودیت‌ها             |
| ۸۱ | ابزار، حجم‌ها و نکات فنی              |
| ۸۱ | تشکیل لخته، جداسازی سرم و آماده‌سازی  |

|    |                                                            |
|----|------------------------------------------------------------|
| ۸۲ | ..... نگهداری و انتقال                                     |
| ۸۲ | ..... کنترل کیفیت میدانی و مستندسازی                       |
| ۸۲ | ..... خطاهای رایج و راهکارهای اصلاح                        |
| ۸۳ | ..... آزمون‌های سرولوژی نیوکاسل                            |
| ۸۳ | ..... آزمون HI برای نیوکاسل                                |
| ۸۴ | ..... طراحی نمونه‌برداری برای تست‌های سرولوژی گله          |
| ۸۴ | ..... الزامات پیش‌تحلیلی و کنترل کیفیت                     |
| ۸۴ | ..... تجهیزات و مواد مورد نیاز                             |
| ۸۵ | ..... تهیهٔ سوسپانسیون گلبول قرمز                          |
| ۸۵ | ..... آنتی‌ژن HI نیوکاسل                                   |
| ۸۵ | ..... خطاهای رایج و راهکارهای اصلاح                        |
| ۸۵ | ..... ملاحظات زمانی در نمونه‌برداری بیماری‌های ویروسی طیور |
| ۸۶ | ..... برونشیت عفونی (Infectious Bronchitis – IB)           |
| ۸۶ | ..... گامبورو (Infectious Bursal Disease – IBD)            |
| ۸۷ | ..... آنفلوانزای پرندگان (Avian Influenza – AI)            |

## بخش دوازدهم: برگه‌ها و بازبینی‌ها (چک‌لیست‌ها) ..... ۸۹

|     |                                                        |
|-----|--------------------------------------------------------|
| ۹۱  | ..... شرح                                              |
| ۹۲  | ..... برگهٔ برجسب نمونه                                |
| ۹۳  | ..... برگهٔ میدانی عمومی نمونه‌برداری                  |
| ۹۴  | ..... برگهٔ زنجیرهٔ انتقال نمونه‌ها (Chain-of-Custody) |
| ۹۵  | ..... بازبینی پیش از نمونه‌برداری (Pre-Trip Checklist) |
| ۹۶  | ..... بازبینی اجرای میدانی نمونه‌برداری                |
| ۹۷  | ..... بازبینی بسته‌بندی و ارسال نمونه‌ها               |
| ۹۷  | ..... الگوی ماتریس محور/ خوراک و غلات                  |
| ۹۸  | ..... الگوی ماتریس محور/ سیلاژ                         |
| ۹۸  | ..... الگوی ماتریس محور/ خوراک کامل مخلوط (TMR)        |
| ۹۹  | ..... الگوی ماتریس محور/ آب و پساب                     |
| ۹۹  | ..... برگهٔ نمونه‌برداری شیر و تشخیص ورم پستان         |
| ۱۰۰ | ..... برگهٔ نمونه‌برداری خون (نشخوارکنندگان)           |

|                                                   |     |
|---------------------------------------------------|-----|
| برگه نمونه برداری مدفوع.....                      | ۱۰۰ |
| نمونه برداری بافت گوش برای پایش BVD .....         | ۱۰۰ |
| نمونه برداری خون طیور برای سرولوژی .....          | ۱۰۱ |
| نمونه برداری غیرتهاجمی در طیور.....               | ۱۰۱ |
| فرم ثبت کنترل کیفیت (QA/QC) در نمونه برداری ..... | ۱۰۲ |
| فرم ثبت عدم انطباق و اقدام اصلاحی.....            | ۱۰۲ |
| فرم گزارش نمونه برداری.....                       | ۱۰۵ |
| فرم توافقتنامه با مشتری برای انجام آزمون .....    | ۱۰۶ |

### فهرست جدول‌ها

|                                             |     |
|---------------------------------------------|-----|
| جدول ۱: تطابق نوع لوله با آزمایش            | ۶۰  |
| جدول ۲: ظروف و شرایط نمونه‌برداری آب و پساب | ۱۰۳ |

### فهرست شکل‌ها

|                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------|----|
| شکل ۱: دریافت نمونه‌های غله، پلت یا خوراک‌های جایگزین            | ۱۷ |
| شکل ۲: روش نمونه‌برداری از سیلاژ تازه                            | ۲۶ |
| شکل ۳: روش‌های نمونه‌برداری از سیلاژ انباری و غلات با رطوبت بالا | ۳۰ |
| شکل ۴: نمونه‌گیری آسپتیک شیر از هر کارتیۀ پستان                  | ۵۱ |
| شکل ۵: روش اجرایی نمونه‌برداری از گوش (Ear Notch) برای پایش BVD  | ۷۶ |

## مقدمه

نمونه‌برداری در آزمایش‌های دام، طیور و خوراک تنها یک گام ساده در مسیر تحقیق یا کنترل کیفیت نیست؛ بلکه سنگ‌بنای تمام قضاوت‌های علمی و مدیریتی است. کیفیت هر تحلیل، هر گزارش و هر تصمیمی که بر پایه نتایج آزمایشگاهی شکل می‌گیرد، در گرو دقت و صحت نمونه‌ای است که انتخاب و ارسال شده است. کوچک‌ترین بی‌توجهی در این مرحله می‌تواند نتایج را دچار انحراف کرده و مسیر تصمیم‌گیری را از واقعیت دور سازد.

این کتاب با هدف ارائه یک راهنمای ساده، دقیق و در عین حال کاربردی تدوین شده است تا کارشناسان، دامپزشکان، مدیران و تکنسین‌های فعال در واحدهای صنعتی بتوانند به شیوه‌ای استاندارد و هماهنگ، عملیات نمونه‌برداری را انجام دهند. برگه‌ها و بازبینیهایی (چک‌لیست) که در این مجموعه طراحی شده‌اند، ابزاری برای ثبت دقیق اطلاعات، کاهش خطا و افزایش شفافیت در فرآیند آزمایش و تفسیر نتایج هستند.

به باور نویسندگان، نظام‌مند شدن فرآیند نمونه‌برداری و ثبت داده‌ها، نه تنها به ارتقای کیفیت نتایج آزمایشگاهی منجر می‌شود، بلکه فرهنگ علمی و مدیریتی یک مجموعه را نیز غنی‌تر می‌سازد. امید است این کتاب بتواند به عنوان نقشه راهی کوچک اما کارآمد، گامی در جهت حرفه‌ای‌تر شدن فعالیت‌های تحقیقاتی و اجرایی در صنعت دام و طیور کشور باشد.



# بخش اول

تعریف، اصطلاحات رایج، خطاها و اصول اجرایی نمونه برداری



## نمونه برداری

نمونه برداری فرایندی است که طی آن بخشی از یک مجموعه بزرگ انتخاب می شود؛ به گونه ای که ویژگی های آن بخش نمایانگر خصوصیات کل مجموعه باشد. دقت هر نتیجه آزمایشگاهی در وهله اول به کیفیت نمونه برداری وابسته است و هیچ روش آزمایشگاهی نمی تواند خطاهای ناشی از برداشت نادرست را جبران کند. دامنه این دستورالعمل شامل خوراک و غلات، علوفه و سیلاژ، خوراک کامل مخلوط، آب و پساب، شیر و نمونه های مرتبط با ورم پستان، خون، مدفوع و نمونه گوش جهت آلودگی به BVD است.

نمونه شاخص، نمونه ای است که ویژگی های آماری آن تا حد قابل قبول بازتاب دهنده خصوصیات کل ماده در یک دسته باشد. برای دستیابی به نمایندگی واقعی، رعایت سه اصل اساسی ضروری است:

- انتخاب بی طرفانه نقاط استخراج و برداشت نمونه و زمان های برداشت، بر اساس طرح تصادفی یا نظام مند، بدون هیچ گونه ترجیح یا دخالت شخصی
- پوشش کامل ناهمگنی فضایی و زمانی از طریق تعیین تعداد کافی نمونه های نقطه ای و توزیع مناسب آن ها در طول، عرض و عمق یا در بازه های زمانی مرتبط
- تناسب جرم نمونه مرکب و نمونه آزمایشگاهی با نوع و هدف آزمون های پیش بینی شده

## تعریف دسته یا LOT

دسته کوچک ترین واحد تصمیم گیری است که قرار است درباره آن قضاوت شود. دسته مجموعه ای از ماده با تاریخچه تولید، اختلاط یا ذخیره سازی مشابه و با مرزهای زمانی و مکانی مشخص است که یک نتیجه یکتا و یکسان به آن نسبت داده می شود.

نمونه های رایج از تعریف دسته عبارتند از:

- تمامی کیسه های یک گدبج در تاریخ مشخص در یک انبار معین؛
- یک کامیون اقلام خوراک فله بارگیری شده از یک خط تولید مشخص در یک تاریخ
- بخش مشخصی از سطح برش یک سیلاژ با تعیین ارتفاع و پهنای برداشت در یک

روز معین

- خروجی یک میکسر در یک شیفت و بازه زمانی توزیع مشخص
- اگر دسته به صورت مبهم یا بیش از حد بزرگ تعریف شود، نمونه برداشت شده توانایی بازنمایی ویژگی های کل ماده را از دست خواهد داد.

## اصطلاحات رایج در نمونه‌برداری

- **نمونه نقطه‌ای (Increment):** مقدار کوچکی از ماده یا ترکیب که در یک نقطه (مکان در اولویت است)، یا یک لحظه مشخص از یک دسته برداشت می‌شود.
- **نمونه مرکب (Composite sample):** ترکیبی از چندین نمونه نقطه‌ای از نقاط یا زمان‌های مختلف همان دسته که برای کاهش اثر ناهمگنی به کار می‌رود.
- **نمونه لحظه‌ای (Grab sample):** یک نمونه منفرد از یک نقطه یا زمان مشخص (زمان در اولویت است)، که بیشتر در شرایط ناهمگنی پایین یا برای عیب‌یابی نقطه‌ای استفاده می‌شود.
- **دسته ساکن (Static lot):** توده یا انباشت ماده در یک محل ثابت، مانند دپو یا کیسه، که نمونه‌برداری از آن باید سطح، عمق و گستره کافی را پوشش دهد (جابجایی و تغییر جریان ندارد).
- **جریان پیوسته (Dynamic flow):** جریان ماده هنگام بارگیری یا تخلیه که نمونه‌برداری از آن باید در فواصل منظم زمانی یا با برداشت مقادیر مساوی در طول عبور جریان انجام گیرد.
- **نمونه تکراری میدانی (Field Duplicate):** برداشت مستقل و تکراری از همان دسته برای ارزیابی میزان دقت در نمونه‌برداری میدانی
- **بلانک‌ها (Blanks):** نمونه‌های کنترلی و شاهد که برای اطمینان از عدم ورود آلودگی در مراحل مختلف نمونه‌برداری و انتقال به کار می‌روند.
  - **نمونه شاهد میدانی:** برای بررسی آلودگی احتمالی در محیط نمونه‌برداری
  - **نمونه شاهد حمل:** برای کنترل آلودگی احتمالی در زمان جابه‌جایی و انتقال نمونه‌ها
  - **نمونه شاهد از شست‌وشوی تجهیزات:** برای پایش آلودگی ناشی از ابزار نمونه‌برداری
- **زنجیره انتقال (Chain of custody):** فرایند ثبت و مستندسازی پیوسته تحویل نمونه از محل جمع‌آوری و اخذ تا رسیدن به آزمایشگاه

- ضریب تغییرات (CV - Coefficient of Variation): شاخصی برای سنجش

یکنواختی و میزان پراکندگی. در ارزیابی یکنواختی خوراک، نمونه مرکب باید از ابتدای آخور، میانه و انتهای آن برداشت شود.

## انواع خطا و روش‌های کنترل آن‌ها

### خطای نمونه‌برداری

این خطا به دلیل ناهمگنی ماده یا روش نادرست برداشت ایجاد می‌شود؛ مانند استفاده از تعداد کم نمونه‌های نقطه‌ای، انتخاب سوگیرانه محل برداشت یا به کارگیری ابزار نامناسب است  
**راه کنترل:** افزایش تعداد نمونه‌های نقطه‌ای، پراکندگی مناسب آن‌ها در نقاط مختلف و استفاده از ابزار استاندارد و متناسب است

### خطای همگن‌سازی و کاهش حجم

زمانی رخ می‌دهد که ماده قبل از تقسیم به صورت کامل مخلوط نشود، تقسیم به روش چشمی انجام گیرد، یا از سطح کار آلوده یا مرطوب استفاده شود.  
**راه کنترل:** مخلوط‌سازی کامل ماده و به کارگیری روش‌های استاندارد برای کاهش حجم.

### خطای تحلیلی

این خطا به مرحله آزمایشگاهی مربوط است و می‌تواند ناشی از روش نامناسب، خطای دستگاه یا اپراتور باشد.  
**راه کنترل:** اجرای برنامه منظم کنترل کیفیت در آزمایشگاه.

### خطای مستندسازی و انتساب

وقتی رخ می‌دهد که برچسب‌ها ناقص باشند، زنجیره انتقال دچار گسست شود یا ظروف جابه‌جا شوند.  
**راه کنترل:** تکمیل دقیق برچسب‌ها و برگه‌های زنجیره انتقال و پایبندی به آن‌ها.

## خطاهای رایج در ارسال نمونه در ایران

در بسیاری از گاوداری‌ها و مرغداری‌های کشور، خطاهای تکراری و پرخطر در بسته‌بندی و ارسال نمونه به آزمایشگاه مشاهده می‌شود. این خطاها نه تنها هزینه آزمایش را بی‌اثر می‌کنند، بلکه باعث می‌شوند تصمیم‌های تغذیه‌ای و مدیریتی بر اساس نتایج تحریف‌شده گرفته شوند.

- ارسال در پاکت‌های کاغذی یا مقوایی: الیاف کاغذ بخش زیادی از چربی موجود در پودر گوشت، پودر ماهی و کنجاله‌ها را جذب می‌کنند. در نتیجه، مقادیر واقعی چربی و انرژی کمتر از مقدار اصلی گزارش می‌شود و ترکیب خوراک به صورت مصنوعی تغییر می‌کند.
- ارسال در دستکش‌های مامایی یا یک‌بار مصرف: این دستکش‌ها برای نمونه‌برداری به هیچ عنوان مناسب نیست. مواد شیمیایی و روان‌کننده‌های صنعتی موجود در ساخت آن‌ها وارد نمونه می‌شوند و نتیجه آزمایش را تحریف می‌کنند. از سوی دیگر، مقاومت پایین آن‌ها در برابر فشار و سوراخ شدن باعث نشت یا آلودگی نمونه در مسیر انتقال می‌شود.
- استفاده از ظروف نامناسب و آلوده: به کارگیری بطری‌های نوشیدنی، ظروف بازیافتی یا کیسه‌های غیر استاندارد باعث نفوذ گردوغبار، رشد کپک و آلودگی قارچی می‌شود. چنین نمونه‌ای اعتبار خود را از دست می‌دهد و نتیجه آزمایش عملاً غیرقابل اعتماد می‌شود.

## اصول اجرایی عمومی نمونه‌برداری

### انتخاب نقاط و زمان‌ها

- در دیو و کیسه از پُمو با طول کافی استفاده کنید و نقاط برداشت را در سطح، عمق و گستره محصول، ماده یا نهاده پخش نمایید.
- در جریان‌های پیوسته، مانند بارگیری یا تخلیه خوراک فله، باید نمونه‌برداری در فواصل زمانی منظم (مثلاً هر ۱۰ دقیقه یکبار) یا با مقادیر هم جرم (مثلاً برداشت ۲۰ کیلوگرم به عنوان نمونه جزئی) در طول عبور جریان انجام شود. این کار باعث می‌شود نمونه مرکب بازتاب دهنده کل جریان باشد و نه فقط یک بخش محدود از آن را شامل شود.

## تعداد نمونه‌های نقطه‌ای و جرم آن‌ها

- به‌جای چند برداشت حجم، تعداد بیشتری نمونه نقطه‌ای کوچک و تقریباً هم جرم تهیه کنید.
- پس از آن، همه نمونه‌های نقطه‌ای را با هم ترکیب کرده و نمونه مرکب بسازید.
- مجموع جرم نمونه مرکب باید به اندازه‌ای باشد که پس از کاهش حجم، امکان تهیه نمونه آزمایشگاهی فراهم گردد.

## همگن‌سازی و کاهش حجم

- پیش از تقسیم، نمونه مرکب را به صورت کامل مخلوط کنید.
- برای کاهش حجم، از ابزار استاندارد مانند تقسیم‌کننده شیاری (Riffle Divider) یا روش مخروط و چهارقسمتی استفاده کنید.
- توجه داشته باشید سطح کار باید صاف، خشک و غیرمخلخل باشد.
- تقسیم چشمی پذیرفته نیست.



تقسیم‌کننده شیاری

## جلوگیری از آلودگی و سوگیری

- ابزار باید تمیز، خشک و متناسب با نوع آزمون باشد.
- در آزمون عناصر ردیابی، از تماس نمونه با فلزات واکنش‌پذیر پرهیز کنید.
- دستکش‌ها باید بین دسته‌های مختلف تعویض شوند و ابزار نمونه‌برداری بین نمونه‌ها شسته و خشک گردد.

## مستندسازی

- اطلاعاتی مانند تاریخ و ساعت، محل برداشت، کد دسته یا بچ، نام برداشت‌کننده، شرایط محیطی و رخداد‌های غیرمعمول باید ثبت شوند.
- فرم زنجیره انتقال باید به صورت دقیق و کامل تکمیل شود و شامل مشخصات تحویل‌دهنده، شرایط حمل (مانند دما و استفاده از یخدان) و زمان خروج نمونه از محل نمونه‌برداری باشد. بخش مربوط به تحویل‌گیرنده و زمان رسیدن نمونه در آزمایشگاه باید هنگام دریافت، توسط آزمایشگاه تکمیل و امضا شود.

### برچسب‌گذاری، کدگذاری و برگه‌ها

- برچسب ظرف: باید شامل کد نمونه، نوع ماتریس (آب، خوراک، پساب و...)، کد دسته یا بچ، تاریخ و ساعت برداشت، محل نمونه‌برداری، نام برداشت‌کننده، هدف آزمون و شرایط نگهداری باشد.
- فرم میدانی: باید مشخصات دسته، روش نمونه‌برداری، تعداد نمونه‌های نقطه‌ای، روش کاهش حجم و هرگونه رخداد غیرمعمول را ثبت کند.
- فرم زنجیره انتقال: باید تمامی مراحل تحویل، شرایط حمل، دماهای ثبت شده و امضاهای تحویل‌دهنده و گیرنده را در بر بگیرد.
- اطلاعات تکمیلی: ثبت جزئیاتی مانند زمان دقیق نمونه‌برداری، مدت نگهداری یا دیو در انبار و سابقه تماس با سموم و آفت‌کش‌ها، دقت تفسیر نتایج آزمایش را به صورت چشمگیری افزایش می‌دهد.

### راهنمای جرم و مقادیر پیشنهادی

مقدار نمونه مورد نیاز برای آزمون‌ها بسته به نوع آزمایش متفاوت است و باید بر اساس هدف مطالعه تعیین گردد. در آزمون‌های شیمیایی روتین (مانند رطوبت، خاکستر، پروتئین، چربی و فیبر) معمولاً بین ۳۰ تا ۱۰۰ گرم نمونه آزمایشگاهی کفایت می‌کند؛ با این حال در مواردی که چندین آزمون بر روی یک نمونه انجام می‌شود، بهتر است حجم بیشتری (حدود ۵۰۰ گرم تا یک کیلوگرم) به آزمایشگاه ارسال گردد تا نیاز همه آزمایش‌ها را پوشش دهد. در سنجش رطوبت و ترکیبات فرار، به دلیل احتمال تبخیر و نیاز به تکرار، حداقل ۵۰ تا ۱۰۰ گرم توصیه می‌شود. برای آزمون‌های میکروبیولوژی معمولاً ۱۰۰ تا ۲۵۰ گرم یا میلی‌لیتر نمونه در ظروف استریل مورد نیاز است و حمل آن باید در شرایط زنجیره سرد انجام شود تا تغییرات جمعیت میکروبی به حداقل برسد. در مورد ترکیبات ناپایدار (مانند مایکوتوکسین‌های خاص، برخی سموم یا ترکیبات فرار)، استفاده از ظروف نفوذناپذیر به هوا و نور، انتقال سریع به آزمایشگاه و کاهش تماس نمونه با عوامل محیطی اهمیت حیاتی دارد.

## ایمنی و تجهیزات عمومی

نمونه‌برداری باید با رعایت اصول ایمنی فردی انجام شود. استفاده از دستکش یک بار مصرف الزامی است و در شرایطی که گردوغبار وجود دارد، باید از ماسک و عینک محافظ نیز استفاده شود. ابزارهای مورد نیاز شامل بَمو با طول مناسب برای برداشت از عمق، سطل یا کیسه تمیز و نفوذناپذیر برای جمع‌آوری، تقسیم‌کننده شیاری یا ابزار چهار قسمتی برای کاهش حجم، برچسب مقاوم به رطوبت برای نشانه‌گذاری، مژیک یا خودکار ضد آب برای نوشتن اطلاعات، یخدان یا کول باکس و یخ خشک برای حمل در زنجیره سرد می‌باشد. تمام ابزار باید پس از هر دسته نمونه شسته، خشک و در کیف تمیز نگهداری شوند تا از انتقال آلودگی جلوگیری شود.

## خطاهای رایج و راهکارهای اصلاح

یکی از خطاهای مهم در نمونه‌برداری، تعریف مبهم یا بیش از حد کلی دسته است. این موضوع با مرزبندی دقیق مکانی و زمانی و ثبت کد بچ اصلاح می‌شود. خطای دیگر مربوط به تعداد کم یا توزیع نامتوازن نمونه‌های نقطه‌ای است که موجب کاهش بازنمایی کل دسته می‌شود؛ برای رفع این مشکل باید تعداد نمونه‌های نقطه‌ای افزایش یافته، جرم هر برداشت یکنواخت شود و نقاط برداشت به شکل مناسب در سطح، عمق و گستره توزیع گردند. تقسیم چشمی نمونه‌ها نیز یکی دیگر از منابع خطاست و باید با روش‌های استاندارد مانند تقسیم‌کننده شیاری یا روش مخروط و چهارقسمتی جایگزین شود. برچسب‌های ناقص یا ناخوانا می‌توانند باعث گم شدن هویت نمونه و خطا شوند، بنابراین باید از الگوهای ثابت، کامل و مقاوم به رطوبت استفاده کرد. در نهایت، گسست در زنجیره انتقال، به طور مثال ثبت نشدن زمان تحویل، دما یا امضای تحویل‌دهنده و گیرنده، یکی از خطاهای رایج است که تنها با تکمیل دقیق فرم‌ها و پایش پیوسته قابل پیشگیری خواهد بود.



## بخش دوم

نمونه برداری خوراک، غلات، روغن و اسیدهای چرب



## نمونه‌برداری خوراک و غلات

هدف از این بخش، برداشت نمونه‌ای است که معرف شاخص‌های کیفی کل دسته خوراک یا غلات باشد و بتوان به نتایج آن برای انجام آنالیزهای شیمیایی، بررسی سموم قارچی، شناسایی آلودگی‌های میکروبی و همچنین کشف تقلبات احتمالی اعتماد کرد. دامنه این دستورالعمل شامل دپوهای ساکن، دپوهای مخروطی یا توده‌ای، بسته‌های کیسه‌ای و جریان‌های بارگیری یا تخلیه است.

## تجهیزات و شرایط عمومی

ابزار اصلی نمونه‌برداری، بمبو با طول و قطر متناسب با عمق و نوع بافت توده است. ظروف جمع‌آوری باید تمیز باشند و در آزمون‌های میکروبیولوژی، از ظروف استریل استفاده شود. دستکش یک‌بارمصرف برای پیشگیری از آلودگی متقاطع الزامی است و باید بین دسته‌های مختلف تعویض شود. سطوح تماس باید خشک، تمیز و غیر متخلخل باشند. برای انتقال، نمونه‌ها در یخدان همراه یخ (یخ خشک) نگهداری و حمل می‌شوند.

## نکات ویژه در خوراک و غلات ایران

در شرایط ایران، علاوه بر نمونه‌برداری روتین، توجه به موارد زیر ضروری است:

- **تقلب در کنباله‌ها و سبوس:** مخلوط کردن با مواد کم‌ارزش‌تر (مانند سبوس، پوسته سبوس و ترکیبات غیر خوراکی) یا افزودن ناخالصی‌های غیرمجاز می‌تواند کیفیت خوراک را به شدت کاهش دهد. نمونه‌برداری دقیق و آنالیز پروتئین خام، فیبر، خاکستر و الیاف می‌تواند این تقلبات را آشکار کند.
- **آلودگی سبوس و غلات:** سبوس گندم و برنج در ایران گاهی حاوی ترکیبات غیرخوراکی، شن، آلودگی بالا به فلزات سنگین یا حتی مقادیر بالای خاکستر هستند. باید نمونه‌ها از بخش‌های مختلف دپو یا کیسه برداشت و از نظر ناخالصی‌های فیزیکی و شیمیایی بررسی شوند.
- **رطوبت بالا:** یکی از عوامل اصلی فساد و رشد قارچ‌ها در غلات و کنباله‌ها است. به همین دلیل سنجش رطوبت در نمونه‌ها ضروری است. رطوبت بیش از حد استاندارد، علاوه بر افت ارزش تغذیه‌ای، زمینه رشد کپک و تولید مایکوتوکسین را فراهم می‌کند.

- **کپک‌زدگی و مایکوتوکسین‌ها:** در غلات و نهاده‌های ذخیره شده، کپک‌زدگی یک مشکل رایج است. برای شناسایی، باید از بخش‌های سطحی و عمقی دپو نمونه‌برداری شود. در صورت مشاهده تغییر رنگ، بوی نامطبوع یا گرمای موضعی، احتمال آلودگی قارچی بالا است و انجام آزمون‌های اختصاصی مایکوتوکسین (آفلاتوکسین، زیرالنون، فومونیزین و ...) توصیه می‌شود.

### تعریف دسته برای خوراک و غلات

- دسته، کوچک‌ترین واحد تصمیم‌گیری است که تاریخچه تولید، اختلاط یا ذخیره‌سازی مشابه دارد و مرزهای زمانی و مکانی آن مشخص است. نمونه‌های رایج از دسته عبارت‌اند از:
- تمام کیسه‌های دارای یک کُد بیچ در یک تاریخ معین در یک انبار مشخص
  - یک کامیون خوراک فله با اطلاعات خط تولید و تاریخ بارگیری مشخص
  - یک بخش مشخص و از پیش تعیین‌شده از یک دپو یا انبار خوراک، که دارای مرز مکانی و حجمی روشن باشد و به عنوان یک واحد مستقل برای نمونه‌برداری در نظر گرفته شود.

### روش اجرایی در دپوهای ساکن

در دپوهای ساکن لازم است سطح، عمق و گستره توده به صورت کامل پوشش داده شود. برای این منظور، توده به صورت ذهنی به چند ناحیه تقسیم می‌گردد و در هر ناحیه، بمبو تا عمق مناسب وارد شده و یک «نمونه نقطه‌ای» با جرم تقریباً یکسان برداشت می‌شود. همه نمونه‌های نقطه‌ای در ظرف تمیز ریخته شده و پس از تکمیل برداشت از تمامی نواحی، مخلوط می‌شوند تا نمونه مرکب حاصل شود. در دپوهای عمیق، استفاده از بمبوی بلند و برداشت از ارتفاع‌های مختلف ضروری است تا از سوگیری سطحی جلوگیری شود.

### روش اجرایی در دپوهای توده‌ای (انباشته یا مخروطی)

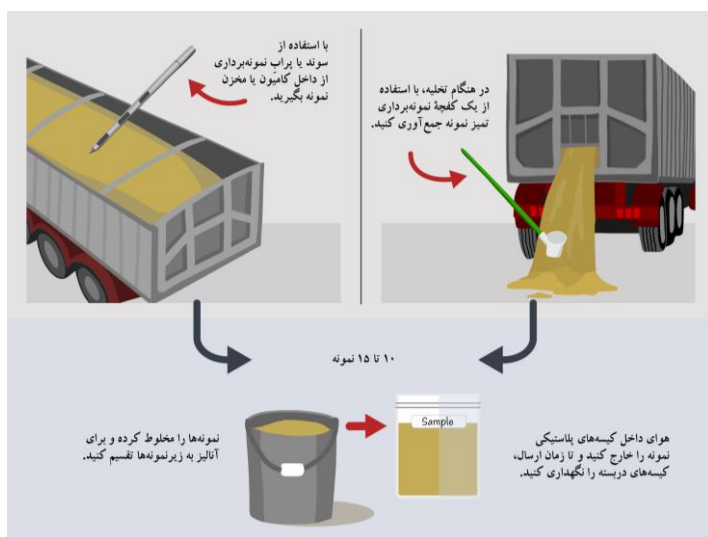
برای دسترسی به بخش‌های داخلی توده، علاوه بر برداشت عمودی از نواحی مختلف، باید ورود افقی بمبو در ردیف‌ها و ستون‌های متفاوت انجام گیرد. نمونه‌های نقطه‌ای از جهات گوناگون و عمق‌های متفاوت جمع‌آوری و سپس ترکیب می‌شوند. رعایت ایمنی در شیب‌ها و دیواره‌های توده هنگام نمونه‌برداری الزامی است.

## روش اجرایی در بسته‌های کیسه‌ای

ابتدا دسته تعریف می‌شود و تعداد لازم کیسه‌ها به صورت تصادفی انتخاب می‌گردد. در هر کیسه انتخاب شده، بمبو وارد شده و یک نمونه نقطه‌ای برداشت می‌شود. نمونه‌های نقطه‌ای برداشت‌شده از کیسه‌های مختلف در یک ظرف تمیز ترکیب و یکنواخت می‌شوند تا نمونه مرکب حاصل شود. پس از برداشت، محل باز شده هر کیسه باید مجدداً مهر و موم گردد.

## جریان‌های بارگیری یا تخلیه

در جریان‌های پیوسته، نمونه‌برداری باید در فواصل زمانی منظم یا با مقادیر هم جرم حین عبور جریان انجام شود. نمونه‌های نقطه‌ای کوچک اما متعدد برداشت شده، سپس جمع‌آوری و مخلوط می‌شوند تا نمونه مرکب به‌دست آید.



شکل ۱: دریافت نمونه‌های غله، پلت یا خوراک‌های جایگزین

## مقدار نمونه نقطه‌ای و نمونه مرکب

وزن هر نمونه نقطه‌ای معمولاً حدود ۱۰۰ گرم در نظر گرفته می‌شود. تمام نمونه‌های نقطه‌ای باید هم جرم باشند و پس از مخلوط کردن، نمونه مرکب تشکیل شود. سپس حجم نمونه مرکب با روش‌های استاندارد کاهش حجم، به مقدار مورد نیاز آزمایشگاه ارسال می‌شود. در صورتی

که آزمایشگاه مقدار دقیق مورد نیاز را اعلام نکرده باشد، ارسال حدود ۳۰۰ تا ۵۰۰ گرم نمونه آزمایشگاهی معمولاً کفایت می‌کند. در مواردی که هدف، ارزیابی یکنواختی است، تعداد و حجم نمونه‌های نقطه‌ای باید افزایش یابد.

### همگن سازی و کاهش حجم

پس از ترکیب نمونه‌های نقطه‌ای، باید همگن‌سازی کامل انجام شود. برای کاهش حجم، استفاده از روش چهارقسمتی یا سیستم‌های تقسیم کننده نمونه (ریفل) یا همان تقسیم کننده شیاردار توصیه می‌شود. سطح کار باید صاف، خشک و غیر متخلخل باشد. تقسیم چشمی نمونه‌ها پذیرفته نیست.

### نگهداری و انتقال

پس از برداشت، نمونه باید در کیسه یا ظرفی قرار گیرد که تماس آن با هوا به حداقل برسد. اطلاعات تکمیلی شامل زمان نمونه برداری، مدت دیو و سابقه تماس با سموم و آفت کش‌ها باید همراه نمونه ارسال شود. برای کنترل رطوبت و دما، رعایت زنجیره سرد ضروری است. حداکثر دمای انتقال ۵ درجه سانتی‌گراد و برای نمونه‌های بسیار مرطوب تا منفی ۲۰ درجه در نظر گرفته می‌شود. مدت نگهداری در دمای ۵ درجه حداکثر سه ماه و در دمای منفی ۲۰ درجه تا شش ماه توصیه می‌گردد. در آزمون‌های میکروبیولوژی، تمامی مراحل نمونه برداری و انتقال باید در شرایط استریل انجام گیرد.

### نکات تکمیلی

- در ارزیابی یکنواختی خوراک، نمونه مرکب باید معرف بخش‌های مختلف آخر (ابتدا، میانه و انتها) باشد تا ضریب تغییرات با دقت بیشتری محاسبه شود.
- سنجش مایکوتوکسین‌ها به صورت ذاتی مستعد خطای فراوان می‌باشد. برای افزایش دقت، به‌ویژه در سیلاژهای مختلف، برداشت تفکیکی از بخش‌های مختلف و انجام آزمون‌های جداگانه ضروری است. این موضوع در روش‌های حساس مانند HPLC، اهمیت دوچندان دارد.

## کنترل کیفیت میدانی

برای ارزیابی دقت نمونه‌برداری، باید نمونه تکراری میدانی از همان دسته و در همان بازه زمانی برداشت شود. در صورت نیاز، از نمونه‌های شاهد مناسب برای پایش آلودگی استفاده می‌شود. برچسب‌گذاری یکدست و خوانا، تکمیل فرم‌های میدانی و رعایت زنجیره انتقال الزامی است. هر رخداد غیرمعمول در جریان نمونه‌برداری باید به روشی دقیق ثبت گردد.

## نمونه‌برداری از روغن‌ها و اسیدهای چرب

برای شروع روند نمونه‌برداری ابتدا لازم است صورت کامل آزمایش‌های درخواستی را (اسیدهای چرب آزاد، شاخص پراکسید، پروفایل اسیدهای چرب، رطوبت، ترکیبات فرار، آفلاتوکسین‌ها و سایر موارد) بررسی کرده و با توجه به آن حجم و ظرف مورد نیاز برای هر آزمایش را انتخاب و از آزمایشگاه مقصد تأییدیه بگیریم.

**نماینده بودن نمونه:** نمونه باید نماینده ترکیب واقعی کل محموله، بسته، تانکر یا مخزن و یا قسمت خاص مورد هدف ما باشد و اگر نه، تمام نتایج بعدی دارای خطا خواهند بود. برای آزمون‌های ارگانولپتیک (بو و طعم) باید نمونه جداگانه و تحت شرایط خاص کنترلی (کمترین تماس با هوا، اکسیداسیون، بدون نفوذ نور، بسته‌بندی مات و دمای کنترل شده) گرفته و به آزمایشگاه منتقل شود. نمونه ارگانولپتیک نباید از همان نمونه ای که قرار است بر روی آن آنالیزهای فیزیکوشیمیایی انجام شود گرفته و بعداً استفاده شود.

## ظروف نمونه‌برداری:

بهتر است برای نمونه‌برداری از ظروف پلی‌اتیلن مخصوص مواد غذایی یا شیشه‌ای قهوه‌ای (amber) یا شیشه بوروسیلیکات با درپوش PTFE و ته‌پوش تفلون استفاده شود. حجم مرجع حداقل ۲۵۰ میلی‌لیتر برای هر نمونه آزمایشگاهی عمومی (بسیاری از مراجع و آزمایشگاه‌ها همین را درخواست می‌کنند) است اما اگر آزمایشگاه به صورت مشخص حجم دیگری خواست، طبق آن عمل کنید. ظروف باید تمیز، خشک و با درپوش محکم باشند تا نمونه را از نفوذ هوا، نور و حرارت محافظت کنند.

- برای آزمون‌های حساس به اکسیداسیون، قبل از بستن درب، می‌توان کمی نیتروژن داخل ظرف دمید تا اکسیژن فضای خالی بالای ظرف (هد-اسپیس) کاهش یابد (البته اگر تجهیزات در دسترس است).

**اختلاط کامل:** قبل از نمونه‌برداری، در صورت امکان باید روغن هم‌زده یا سیرکوله شود تا فازهای مختلف تشکیل شده یکنواخت شود.

- برای بررسی رسوبات یا میکروتوکسین‌ها در روغن‌های گیاهی باید از لرد کف مخزن، ته‌نشین‌ها و رسوبات هم، جداگانه نمونه اخذ شود.

**ثبات شرایط محیطی:** دمای محیط، دمای روغن و هر نوع عملیات فیزیکی مانند اختلاط (هم‌زدن، پمپ کردن) باید ثبت و به آزمایشگاه گزارش شود.

**زمان نگهداری:** بهترین کار این است که نمونه را همان روز یا حداکثر ظرف ۴۸ تا ۷۲ ساعت به آزمایشگاه برسانیم. در صورت تأخیر، نمونه‌ها را باید در دمای حدود ۴ درجه سانتی‌گراد نگه داشت و در صورت نیاز به نگهداری طولانی‌تر، در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد فریز کرد. دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد کیفیت برخی پارامترها (مثل ترکیبات فرار و متغیرهای ارگانولپتیک) را بهتر حفظ می‌کند؛ مطالعات نشان داده ذخیره در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد برای نگهداری طولانی مفید است اما قبل از فریز باید شرایط را با آزمایشگاه هماهنگ کرد. برای انتقال نمونه باید از یخدان استفاده شود.

**نکته:** در نمونه‌برداری از اسیدهای چرب جامد یا نیمه‌جامد باید نقطهٔ تیتراژ بررسی شود (به برگه آنالیز محصول رجوع نموده و اطلاعات دمای تیتراژ آنها مشخص شود). در صورت نیاز، نمونه پیش از برداشت در دمایی حدود ۵ درجه بالاتر از نقطهٔ تیتراژ گرم و پس از همگن‌سازی کامل اخذ شود. در مورد تانکرها و فلکسی‌تانک‌ها، نمونه‌گیری باید پس از سیرکولاسیون کامل (حدود یک ساعت) انجام شود تا ترکیب محتویات یکنواخت گردد.

## انواع روش‌های رایج نمونه‌برداری

### روش دستی (از سطح یا قسمت میانی)

ظرف نمونه را وارد مخزن یا ظرف روغن کرده و از عمق مناسب (سطح، میانه یا نزدیک کف) نمونه‌برداری انجام می‌شود. این روش برای روغن‌های سبک و بدون ته‌نشین قابل قبول است، ولی نمایندهٔ خوبی از کل روغن نیست.

## روش نمونه‌برداری با ابزار

با یک پروب استوانه‌ای فلزی یا ترجیحاً شیشه‌ای دارای دریچه یا شیر تخلیه، در عمق‌های مختلف مخزن نمونه‌گیری انجام می‌شود. برای مخازن یا بسته‌بندی‌های کوچک می‌توان از سرنگ یا پیپت‌های شیشه‌ای با حجم‌های مناسب نیز استفاده کرد.

در این روش چون دریچه در عمق‌های مختلف و مشخص باز می‌شود، نمونه گرفته شده تنها نماینده همان نقطه از مخزن است. بنابراین، این روش بیشتر برای گرفتن نمونه از عمق‌های مختلف (سطح، وسط و کف) و بررسی جدایش فاز یا رسوبات مناسب است. برای نمونه‌گیری سطح بالا (۱۰٪ عمق)، میانه (۵۰٪) و نزدیک کف (۹۰٪) پروب را پایین ببرید و برای هر عمق یک نمونه جزئی بگیرید.

**نکته:** برای اخذ نمونه دقیق، باید حداقل ۳ تا ۵ نمونه جزئی از عمق‌ها و نقاط متفاوت برداشت شود.

## روش تهیه نمونه مرکب

از چند نقطه مختلف (سطح، وسط، کف یا نقاط مختلف خط لوله) نمونه اخذ می‌شود. بعد از مخلوط کردن، نمونه‌ای مرکب تهیه می‌شود که نماینده کل محموله است. نمونه‌های جزئی از مناطق مختلف مجموعاً از حجم ۲ تا ۵ لیتر تهیه شده و سپس در یک ظرف تمیز بزرگ مثل مخلوط کن شیشه‌ای یا بطری تمیز به آرامی همزده تا یکنواخت شود؛ سپس از این مخلوط در ظرف‌های ۲۵۰ میلی لیتری ریخته و به آزمایشگاه منتقل می‌شود. در هنگام پر کردن بهتر است هر ظرف تا حد ممکن بدون فضای خالی (حداکثر ۱-۲ سانتی‌متر) پر شود.

## روش نمونه‌برداری در جریان

هنگام تخلیه یا انتقال روغن از لوله یا پمپ، در محل تخلیه یک انشعاب دارای شیر نمونه‌گیری نصب می‌شود و نمونه به صورت جریان پیوسته در ظرف جمع‌آوری می‌شود. این روش بیشتر برای روغن‌های صنعتی و در مقیاس‌های بزرگ دقیق‌تر است. پس از بازکردن شیر نمونه‌گیری، حداقل ۳ تا ۵ لیتر از روغن تخلیه شود تا نمونه از آب یا مواد قبلی موجود در مسیر پاک شود. نمونه باید با جریان ثابت و با رعایت همان موارد کاهش فضای خالی و بسته‌بندی اخذ شود.

## روش نمونه برداری نقطه‌ای

در این روش نیز فقط از یک نقطه مشخص (مثلاً وسط مخزن یا خروجی لوله) نمونه اخذ می‌شود. این روش بیشتر برای بررسی کیفیت در همان نقطه خاص کاربرد داشته و نمونه، نماینده کل مخزن روغن نیست.

## روش نمونه برداری دستی تصادفی

نمونه برداری سریع و ساده با فرو بردن مستقیم ظرف نمونه به داخل روغن است. این روش یک روش غیرعلمی و غیراصولی است و بیشتر در شرایطی استفاده می‌شود که نیازمند بررسی سریع روغن و تصمیم‌گیری‌های سریع و حساس باشیم.

## خطاهای رایج و راهکارهای اصلاح

- برداشت سطحی بدون پوشش عمق: موجب سوگیری می‌شود و باید با ورود بمبو به عمق کافی اصلاح گردد.
- استفاده از بمبوی کوتاه در دیوهای عمیق: منجر به خطا می‌شود و باید از بمبوی بلند متناسب با عمق استفاده شود.
- برداشت نامتوازن از نواحی محدود توده: خطا را افزایش می‌دهد و باید با پراکندگی مناسب نقاط برداشت اصلاح گردد.
- تقسیم چشمی بدون همگن‌سازی: خطای قابل توجهی ایجاد می‌کند و باید با روش چهارقسمتی یا با استفاده از تقسیم‌کننده شیاردار (ریفل) جایگزین شود.
- برچسب‌گذاری ناقص یا ناخوانا: موجب خطای انتساب نمونه می‌شود و باید با برچسب‌های کامل، الگوی ثابت و مقاوم به رطوبت اصلاح گردد.

# بخش سوم

نمونه برداری از علوفه و سیلاژ



## شرح

این بخش دستورالعمل نمونه‌برداری از سیلاژهای بسته‌بندی‌شده و فله را برای اهداف تغذیه‌ای، تخمیری، میکروبی و سنجش مایکوتوکسین تشریح می‌کند. هدف اصلی، تهیه یک نمونه مرکب معرف بر پایه تعداد کافی نمونه نقطه‌ای از نواحی مختلف است؛ با رعایت اصول ایمنی، زنجیره سرد و پیشگیری از هرگونه آلودگی.

## تجهیزات و شرایط عمومی

ابزارهای مورد نیاز شامل بُمبو یا متۀ نمونه‌برداری متناسب با بافت و رطوبت سیلاژ، چاقوی تیز یا ابزار برش تمیز برای بازکردن حداقلی بسته‌ها، ظرف یا کیسه نفوذناپذیر و مقاوم (زیپ‌کیپ)، در محکم یا بست حرارتی، قلم ضدآب و برچسب مقاوم به رطوبت، یخدان و یخ برای حمل در زنجیره سرد است. برای آزمون‌های میکروبیولوژی، استفاده از ظروف و ابزار استریل الزامی است. تمام ابزار باید پس از هر دسته شسته و خشک شوند تا از آلودگی متقاطع جلوگیری گردد.

## نمونه‌برداری از علوفه خشک (یونجه، اسپرس، کاه، بسته‌بندی‌شده)

تعریف لات: هر علوفه با مزرعه، نوبت برداشت یکسان و شرایط فرآوری مشابه را یک لات در نظر بگیرید. از هر لات جداگانه نمونه بگیرید.

ابزار: پراب نمونه‌برداری علوفه (قطر ۱-۲ سانتی‌متر، طول ۳۰-۴۵ سانتی‌متر)، دستی یا متصل به دریل.

تعداد و شیوه برداشت:

- از هر لات ۱۵ تا ۲۰ نمونه استوانه‌ای با پراب بگیرید و نمونه مرکب تهیه کنید.
- پرس‌های مکعبی: پراب را از انتهای پرس موازی الیاف تا نیمه عمق وارد کنید.
- بسته‌های گرد یا راند بیل‌ها (round bale): پراب را از پهلوی به صورت شعاعی تا نزدیک مرکز فرو ببرید.
- بسته‌ها را تصادفی انتخاب کنید؛ از لایه‌های بیرونی هواخورده یا آب‌خورده اجتناب کنید. حجم نمونه نهایی: پس از مخلوط کردن، ۳۰۰ تا ۵۰۰ گرم برای ارسال به آزمایشگاه کنار بگذارید. بسته‌بندی و نگهداری: نمونه مرکب را در کیسه محکم بریزید، هوای داخل را خارج و کاملاً پلمب کنید؛ در محیط خنک نگهداری و سریع ارسال کنید.
- برچسب‌گذاری: دامداری، نوع علوفه، گونه گیاهی، شماره لات، تاریخ و نوبت برداشت (کاتینگ)، مزرعه/استان و یادداشت شرایط خاص (بارندگی پس از برداشت و ...).

## نمونه‌برداری از علوفه تازه خردشده (مثل ذرت چاپر شده) برای سنجش ماده خشک / رطوبت

زمان و محل: در طول روز برداشت و حین تخلیه از هر محموله نمونه بگیرید تا نوسان رطوبت پوشش داده شود.

تعداد برداشت‌ها: از هر کامیون یا تریلر ۲-۳ نمونه دستی کوچک (hand grab) بردارید؛ در پایان روز نمونه مرکب شما باید حداقل از ۲۰ تا ۳۰ برداشت کوچک تشکیل شود.

روش برداشت: با دست یا کفچه تمیز از جریان در حال تخلیه و نیز نقاط مختلف توده دپو (سطح / میانه/عمق) بردارید؛ از لبه‌های خشک شده دوری کنید.

جمع‌آوری: نمونه‌ها را فوراً در ظرف تمیز بریزید و درب را ببندید تا تبخیر به حداقل برسد. تهیه نمونه مرکب: مخلوط کنید و ۵۰۰ تا ۸۰۰ گرم را به عنوان نمونه آزمایشگاهی کنار بگذارید. بسته‌بندی و نگهداری: زیرنمونه را در کیسه زیپ‌لاک محکم بریزید، هوای داخل را خارج و کاملاً پلمب کنید. اگر ارسال فوری ممکن نیست، یخچال (کوتاه‌مدت) یا فریزر (بیش از ۱۲ ساعت) نگهداری شود.

برچسب‌گذاری: نوع علوفه، تاریخ/ساعت، شماره محموله‌ها، مزرعه و دامداری.



شکل ۲: روش نمونه‌برداری از سیلاژه تازه

## تعریف دسته برای سیلاژ

دسته، واحدی است با تاریخچه مشابه برداشت یا ذخیره سازی و مرز مکانی و زمانی مشخص. نمونه های رایج از تعریف دسته عبارت اند از:

- یک ردیف مشخص از بسته ها با تاریخ سیلو کردن یکسان
- بخش مشخصی از سطح برش یک سیلوی روزمینی یا خندقی در یک روز معین، با تعیین ارتفاع و پهنای برداشت
- بازه مشخصی از خروجی روزانه همان سیلو

## سیلاژ بسته بندی شده

- انتخاب بسته ها: بسته ها باید به صورت تصادفی از کل دسته انتخاب شوند. تعداد بسته های انتخابی بستگی به میزان ناهمگنی و هدف آزمون دارد و در پروژه های حساس باید افزایش یابد.
- برداشت نمونه نقطه ای: بمبو یا مته در نقطه ای تمیز و خشک از بسته وارد شود و مقدار تقریباً هم جرم از هر بسته برداشت گردد. نمونه ها باید در ظرف تمیز و مناسب جمع آوری شوند.
- محل ورود ابزار باید به شکلی مناسب مهر و موم شود تا نفوذ هوا و رطوبت به حداقل برسد.
- ترکیب: نمونه های نقطه ای برداشت شده از بسته های انتخابی به خوبی با هم مخلوط شده و به یک نمونه مرکب تبدیل می شوند.

## سیلاژ فله ای (سیلوهای روزمینی یا خندقی)

- ایمنی: پیش از نمونه برداری، پایداری سطح برش بررسی شود. ایستادن زیر تاج های قوس دار یا ترک خورده، حفر گودال در پای دیواره و ورود به فضاهای ناپایدار ممنوع است. نمونه برداری فقط پس از ایمن سازی و با لایه برداری از سطحی که در معرض هوا بوده (یعنی زیر لایه ای که تحت تاثیر محیط بیرون بوده) انجام شود.
- الگوی برداشت: سطح مقطع سیلو در نظر گرفته شود و نمونه های نقطه ای به صورت یک الگوی W در پهنای سطح و در ارتفاع های مختلف برداشت گردند تا

نماینده کلی توده بهتر حفظ شود. در سیلوهای عمیق، برداشت از نقاط میانی ارتفاع و پهنا الزامی است و برداشت صرف از لبه‌ها قابل قبول نیست.

- نمونه‌برداری سیلاژ باید همواره از سطح تازه، تمیز و فاقد کپک یا آلودگی ثانویه انجام شود تا نماینده واقعی کیفیت توده باشد. بهترین روش استفاده از مته یا ابزار اختصاصی نمونه‌برداری سیلاژ است که امکان برداشت یکنواخت از عمق و لایه‌های مختلف را فراهم می‌کند. در صورتی که از لودر یا کاتر برای برداشت روزانه استفاده می‌شود، می‌توان نمونه‌های نقطه‌ای را از خوراک تازه و بلافاصله پس از خروج از سیلو تهیه کرد (خوراک در معرض هوا و تابش خورشید نبوده). این نمونه‌ها باید به صورت تصادفی و از بخش‌های مختلف برداشت روزانه جمع‌آوری شده و سپس با یکدیگر مخلوط شوند تا یک نمونه مرکب نماینده کل بار به دست آید.
- ترکیب: نمونه‌های نقطه‌ای برداشت شده از بخش‌های مختلف پهنا و ارتفاع به نسبت‌های برابر ترکیب و همگن‌سازی می‌شوند تا نمونه مرکب حاصل گردد.

### تعداد و جرم نمونه‌های نقطه‌ای و نمونه مرکب

در مواد ناهمگن مانند سیلاژ، تعداد نمونه‌های نقطه‌ای باید زیاد و جرم هرکدام کوچک و تقریباً برابر باشد. پس از ترکیب کامل و همگن‌سازی، حجم نمونه مرکب با روش‌های استاندارد کاهش حجم به میزان مورد نیاز آزمایشگاه رسانده می‌شود. اگر آزمایشگاه مقدار دقیق مورد نیاز را اعلام نکرده باشد، ارسال حدود ۳۰۰ تا ۵۰۰ گرم نمونه آزمایشگاهی معمولاً کفایت می‌کند.

### همگن‌سازی و کاهش حجم

نمونه مرکب باید پیش از تقسیم‌کردن به صورت کامل مخلوط شود. برای کاهش حجم می‌توان از روش مخروط و چهارقسمتی روی سطح صاف، خشک و غیر متخلخل استفاده کرد. در صورت دسترسی، استفاده از تقسیم‌کننده شیاردار توصیه می‌شود. تقسیم چشمی بدون همگن‌سازی قابل قبول نیست.

## نگهداری و انتقال

پس از برداشت، باید هواگیری کیسه و بستن محکم آن انجام شود. برای کاهش اکسیداسیون و جلوگیری از رشد مخمرها، خروج کامل هوا و استفاده از کیسه‌های نفوذناپذیر ضروری است. نگهداری و انتقال باید حتماً با زنجیره سرد صورت گیرد. برای انتقال کوتاه‌مدت، دمای یخچال (حدود ۴-۵ درجه سانتی‌گراد) مناسب است. اگر فاصله زمانی تا آزمون طولانی باشد، نگهداری در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد توصیه می‌شود.

اطلاعات همراه نمونه شامل تاریخ و ساعت برداشت، محل سطح برش، و هرگونه شرایط ظاهری یا بویایی غیرعادی باید ثبت و همراه نمونه ارسال شود.

## نکات اختصاصی براساس نوع آزمون

آزمون‌های تغذیه‌ای: باید نماینده کل سطح برش باشد و اجزای ریز و درشت هر دو در نمونه حضور داشته باشند. زمان در معرض هوا بودن نمونه باید کوتاه شود.

آزمون‌های تخمیری و اسیدها: خروج کامل هوا و انتقال سریع اهمیت حیاتی دارد.

آزمون‌های میکروبی: استفاده از ظروف و ابزار کاملاً استریل الزامی است و تماس مستقیم دست با نمونه باید به حداقل برسد.

آزمون‌های مایکوتوکسین: به دلیل توزیع ناهمگن آلودگی، تعداد نمونه‌های نقطه‌ای باید افزایش یابد.

**نکته:** در صورت نیاز به نتایج دقیق‌تر، نمونه‌برداری تفکیکی از کنار دیوارها، لایه‌های سطحی و بخش‌های داخلی سیلو و انجام آزمون‌های جداگانه توصیه می‌شود.

## کنترل کیفیت

برای ارزیابی دقت فرآیند، باید نمونه تکراری میدانی از همان دسته و در همان بازه زمانی برداشت شود. در صورت نیاز، از نمونه‌های شاهد مناسب برای پایش آلودگی ابزار استفاده گردد. برچسب‌گذاری یکنواخت و خوانا، تکمیل فرم‌های میدانی و رعایت زنجیره انتقال الزامی است. هر رخداد غیرمعمول مانند گرم‌شدن موضعی، کپک‌زدگی قابل مشاهده یا تغییر رنگ باید دقیقاً ثبت شود.

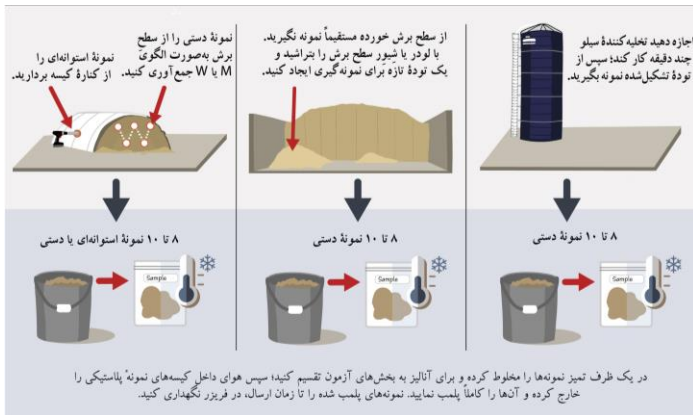
## خطاهای رایج و راهکارهای اصلاح

برداشت تنها از سطح یا لبه‌های سیلاژ ممنوع است، زیرا ترکیب این بخش‌ها نماینده کل توده نیست و منجر به سوگیری نتایج می‌شود. برای به‌دست‌آوردن نمونه‌ای معتبر، برداشت باید طبق الگوی W از سطح برش انجام گیرد و تمام ارتفاع سیلو در نمونه‌برداری باید مد نظر قرار گیرد.

به‌کارگیری ابزار کوتاه یا غیرتیز در سیلاژ‌های متراکم باعث می‌شود بخش‌های درونی به‌درستی نمونه‌برداری نشوند و نتیجه فقط بازتاب سطح باشد. برای رفع این مشکل باید از ابزار مناسب با طول کافی و لبه تیز استفاده شود تا تمام لایه‌ها در نمونه حضور داشته باشند. بازکردن گسترده بسته‌ها موجب نفوذ هوا و فساد نمونه می‌شود و باید با حداقل برش و باز بستن سریع انجام گیرد.

بازکردن بیش‌ازحد بسته‌ها هنگام نمونه‌برداری موجب ورود هوا و افزایش ریسک کپک‌زدگی و فساد می‌شود. بنابراین باید تنها به‌اندازه لازم برش ایجاد کرده و پس از برداشت، محل باز شده فوراً و به صورت کامل مهر و موم گردد.

نگهداری در دمای محیط، تأخیر در ارسال یا هواگیری ناقص کیسه موجب رشد مخمر و تغییر نتایج می‌شود و باید با رعایت زنجیره سرد و استفاده از بسته‌بندی مناسب اصلاح گردد.



شکل ۳: روش‌های نمونه‌برداری از سیلاژ انباری و غلات با رطوبت بالا

## بخش چهارم

نمونه برداری از خوراک کامل (TMR)



## شرح

این بخش به منظور تهیه یک نمونه مرکب معرف از خوراک کامل مخلوط (TMR) طراحی شده است. نمونه باید برای ارزیابی ترکیب غذایی، سنجش رطوبت، بررسی آلودگی‌های میکروبی و تعیین یکنواختی خوراک قابل اعتماد باشد. دامنه این دستورالعمل شامل نمونه‌برداری حین توزیع در آخور، از خروجی میکسر و از خوراک باقی‌مانده در آخور است.

## تجهیزات و شرایط عمومی

ابزار مورد نیاز شامل بیلچه یا ملاقه تمیز، سطل یا کیسه نفوذناپذیر، برچسب مقاوم به رطوبت و قلم ضدآب برای نوشتن مشخصات، تقسیم‌کننده شیاردار (Riffle Divider) یا ابزار چهار قسمتی برای کاهش حجم و یخدان مجهز به یخ خشک برای انتقال نمونه‌ها است. برای آزمون‌های میکروبیولوژی باید از ظروف و وسایل استریل استفاده شود. تمام ابزار پس از هر دسته شسته و خشک شوند.

تعریف دسته برای TMR: هر نوبت تولید میکسر همراه با بازه زمانی مشخص توزیع، یک دسته محسوب می‌شود.

- مثال: خروجی میکسر شیف‌ت صبح با توزیع بین ساعت ۷:۳۰ تا ۸:۰۰ در یک واحد مشخص. در صورت تغییر محسوس در زمان مخلوط‌کردن، نوع مواد اولیه یا تنظیمات میکسر و دسته‌ها باید به صورت جداگانه تعریف شوند.

## طرح نمونه‌برداری در آخور حین توزیع

نمونه‌بردار باید همزمان با ریختن خوراک در طول آخور حرکت کرده و از بخش‌های مختلف آن نمونه‌های نقطه‌ای برداشت کند تا کل طول آخور به صورت یکنواخت پوشش داده شود. برداشت نباید فقط از سطح آخور انجام گیرد؛ نمونه باید از لایه‌های میانی ردیف خوراک نیز گرفته شود تا اثر لایه‌بندی کاهش یابد. نمونه‌های نقطه‌ای باید هم جرم باشند و پس از پایان توزیع، با هم ترکیب و همگن شوند تا نمونه مرکب به دست آید.

## طرح زمان‌محور برای بررسی یکنواختی و مرتب‌سازی (سورت‌کردن)

برای ارزیابی یکنواختی خوراک و تشخیص سورت‌کردن، نمونه‌برداری باید در سه زمان انجام شود:

- بلافاصله پس از توزیع
- در میانه دوره مصرف (مثلاً دو تا سه ساعت بعد)
- در پایان مصرف خوراک (باقی مانده خوراک)

برای ارزیابی یکنواختی خوراک در آخور، نمونه‌های مستقل باید از ابتدا، میانه و انتهای خط آخور برداشت و به صورت جداگانه آزمایش شوند. علاوه بر این، یک نمونه مرکب کلی نیز می‌تواند تهیه شود تا برآورد جامعی از کیفیت خوراک در دسترس قرار دهد. این روش امکان محاسبه ضریب تغییرات (CV) و تشخیص خطاهای ناشی از مخلوط‌سازی یا میکس و توزیع خوراک را فراهم می‌کند.

## مقدار نمونه‌های نقطه‌ای و نمونه مرکب

در مواد ناهمگن مانند TMR، تعداد نمونه‌های نقطه‌ای باید زیاد و جرم هر کدام کوچک و تقریباً برابر انتخاب شود. پس از ترکیب و کاهش حجم نمونه مرکب، معمولاً ارسال حدود ۳۰۰ تا ۵۰۰ گرم نمونه آزمایشگاهی کفایت می‌کند؛ مگر اینکه آزمایشگاه مقدار دیگری را اعلام کند. اگر طول آخور زیاد باشد، تعداد نمونه‌های نقطه‌ای باید متناسب با طول آخور افزایش یابد.

## همگن‌سازی و کاهش حجم

پس از ترکیب نمونه‌های نقطه‌ای، باید مخلوط‌سازی کامل انجام شود. برای کاهش حجم، استفاده از روش چهارقسمتی روی سطح صاف، خشک و غیرمتخلخل توصیه می‌شود. در صورت دسترسی، می‌توان از تقسیم‌کننده شیاردار (Riffle Divider) استفاده کرد. تقسیم چشمی بدون همگن‌سازی مجاز نیست، زیرا خطای قابل توجهی ایجاد می‌کند.

## نگهداری و انتقال

بلافاصله پس از برداشت، کیسه باید هواگیری و محکم بسته شود تا تغییر رطوبت و اکسیداسیون به حداقل برسد. انتقال نمونه‌ها باید در زنجیره سرد صورت گیرد.

- اگر فاصله تا زمان آزمون کوتاه باشد، نگهداری در دمای یخچال مناسب است.
- در صورت تأخیر طولانی‌تر، انجماد در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد توصیه می‌شود.

برای آزمون‌های میکروبیولوژی، تمام مراحل برداشت، انتقال و نگهداری باید با استفاده از ظروف و ابزار استریل انجام گیرد.

در فرم میدانی لازم است مواردی مانند زمان اختلاط، تنظیمات میکسر، ترتیب افزودن مواد، زمان توزیع، برنامه پوش‌آپ و هر رویداد غیر معمول ثبت شود. برای ارزیابی یکنواختی، نمونه مرکب باید معرف ابتدای آخور، میانه و انتهای آخور باشد. در صورتی که هدف سنجش رطوبت باشد، نمونه باید در ظرف دربسته و نفوذ ناپذیر ارسال شود تا تغییر وزن ناشی از تبخیر یا جذب رطوبت رخ ندهد.

### کنترل کیفیت میدانی

برای ارزیابی دقت فرآیند، باید نمونه تکراری میدانی از همان دسته و در همان بازه زمانی برداشت شود. در صورت نیاز، از نمونه شاهد مناسب برای پایش آلودگی ابزار استفاده می‌شود. برچسب‌گذاری یکنواخت و کامل، تکمیل فرم میدانی و رعایت زنجیره انتقال از الزامات اصلی هستند.

### خطاهای رایج و راهکارهای اصلاح

- برداشت فقط از یک نقطه یا صرفاً از سطح آخور باعث سوگیری می‌شود و باید با پوشش یکنواخت طول آخور و لایه میانی اصلاح گردد.
- توقف نمونه‌برداری تنها در ابتدای آخور یا در نقاط در دسترس باعث خطا می‌شود؛ مسیر کامل باید طی شود.
- مخلوط نکردن کامل نمونه‌های نقطه‌ای پیش از کاهش حجم و تقسیم چشمی بدون همگن‌سازی موجب خطای جدی می‌شود و باید با روش‌های استاندارد جایگزین گردد.
- نگهداری نمونه در دمای محیط یا در ظروف نیمه‌باز باعث تغییر ترکیب و رطوبت می‌شود؛ این خطا باید با هواگیری کامل و انتقال در زنجیره سرد اصلاح گردد.



## بخش پنجم

نمونه برداری از آب و پساب



## شرح

این بخش روش استاندارد نمونه برداری از آب آشامیدنی، آب لوله کشی و آب خوری ها، مخازن ذخیره و پساب دامداری را توضیح می دهد. نمونه برداری باید به گونه ای انجام شود که نماینده واقعی دسته مورد نظر باشد و بتوان نتایج شیمیایی، فیزیکی و میکروبی را با اطمینان تفسیر کرد. در تمام مراحل، رعایت زنجیره انتقال، نگهداری در شرایط دمایی کنترل شده و پیشگیری از آلودگی ضروری است.

## تعریف دسته و انتخاب نقطه برداشت

در نمونه برداری آب، واحد نمونه برداری کوچک ترین بخش تعریف شده با مرز مکانی و زمانی مشخص است؛ مانند آب یک چاه در یک تاریخ معین، آب یک مخزن ذخیره در یک شیفته مشخص، یا آب خروجی دورترین آب خوری از همان منبع در همان روز.

انتخاب نقطه برداشت بسته به هدف آزمون تعیین می شود:

- برای بررسی کیفیت منبع، نمونه از خروجی منبع و قبل از تیمار برداشت می شود.
- برای بررسی شبکه آبرسانی واحد پرورش و آب خوری ها، نمونه از نقاط میانی و انتهایی شبکه برداشت می شود.

## آماده سازی خروجی

پیش از برداشت، صافی، پرلاتور یا شلنگ از خروجی جدا شود. شیر آب حدود پنج دقیقه باز بماند تا آب راکد تخلیه و دما پایدار شود. برای آزمون های میکروبی پس از این مرحله، نوک خروجی (شیر آب) ابتدا شعله دهی و سپس نمونه برداری می شود.

## ظروف مناسب برای نمونه برداری آب

### ویژگی های کلی ظروف

- ظروف باید از جنس شیشه بروسیلیکات مقاوم به سترون سازی یا پلاستیک های استریل (مانند پلی اتیلن یا پلی پروپیلن) باشند.
- ظروف نباید در دمای سترون سازی ترکیباتی آزاد کنند که بر رشد باکتری ها اثر بازدارنده یا تحریک کننده داشته باشند.
- انتخاب ظرف وابسته به نوع آزمون است:

- برای آزمون‌های شیمیایی روتین اغلب ظروف پلی‌اتیلنی مناسب هستند.
- برای آزمون ترکیباتی مانند فسفات‌ها و آفت‌کش‌ها که احتمال جذب سطحی دارند، استفاده از ظروف شیشه‌ای توصیه می‌شود.
- در آزمون‌های میکروبیولوژی استفاده از ظروف استریل و مقاوم الزامی است.

### آماده‌سازی و شست‌وشوی ظروف

- پیش از مصرف، ظروف باید با آب و ماده شوینده مناسب شسته شده، سپس حداقل شش بار با آب جاری و در پایان با آب مقطر آبکشی شوند.
- در برخی آزمون‌های شیمیایی خاص، ظروف پلی‌اتیلنی باید به مدت ۲۴ ساعت در محلول یدید پتاسیم یا یداین ۸ درصد نگهداری و سپس آبکشی شوند. ظروف شیشه‌ای نیز ممکن است برای برخی آنالیزها با اسید نیتریک غلیظ یا در موارد خاص با اسید هیدروفلوئوریک (HF) تیمار شوند (با احتیاط کامل).

### خنثی‌سازی ترکیبات گندزدا

- اگر آب حاوی کلر، برم، کلرامین، دی‌اکسید کلر یا ازن باشد، این ترکیبات می‌توانند رشد میکروبی را مهار کرده یا نتایج آزمون را تغییر دهند.
  - برای خنثی‌سازی این بازدارندگی، پیش از نمونه‌گیری به ظروف محلول تیوسولفات سدیم افزوده می‌شود.
  - دوز استاندارد: به ازای هر ۱۲۵ میلی‌لیتر حجم نمونه، ۰.۰۱ میلی‌لیتر از محلول تیوسولفات سدیم ۱۰ درصد اضافه می‌شود که توان خنثی‌سازی حدود ۱۵ میلی‌گرم در لیتر کلر باقی‌مانده را دارد.
- نکته:** پس از هر بار نمونه‌برداری، ظروف باید بلافاصله با آب مقطر شسته شوند تا آلودگی و باقیمانده آزمون قبلی به نتایج بعدی منتقل نشود.

### حجم و ظرف نمونه

- آزمون‌های شیمیایی و فیزیکی: ظرف تمیز با گنجایش حداقل ۲ لیتر
- آزمون‌های میکروبی: ظرف استریل حدود ۲۰۰ میلی‌لیتر (در آب کلرزی شده همراه تیوسولفات)
- پساب و آزمون‌های خاص مثل جار تست: حداقل ۲۰ لیتر، با هماهنگی قبلی با آزمایشگاه.

**نکته:** ظروف باید تمیز و بدون بوی شوینده باشند و برای آزمون‌های میکروبی تنها ظروف استریل پذیرفته است.

## نگهداری و انتقال

بلافاصله پس از پر کردن، ظرف محکم بسته و در یخدان همراه یخ قرار داده می‌شود تا دما در حدود ۴ درجه سانتی‌گراد حفظ گردد. برای آزمون‌های میکروبی، انتقال باید در کوتاه‌ترین زمان ممکن، ترجیحاً کمتر از ۶ ساعت انجام شود و از انجماد به‌طور کامل پرهیز گردد. در آزمون‌های شیمیایی، در صورت نیاز به نگهداری طولانی‌تر، نمونه‌ها می‌توانند در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد منجمد یا با افزودن پایدار کننده‌های استاندارد (مانند اسید نیتریک برای فلزات، اسید سولفوریک برای آمونیاک و COD، یا تیوسولفات برای خنثی‌سازی کلر) حفظ شوند. نوع پایدار کننده باید مطابق هدف آزمون و دستورالعمل آزمایشگاه تعیین شود.

## کنترل کیفیت میدانی

برای سنجش دقت فرآیند، برداشت نمونه تکراری میدانی از همان واحد نمونه‌برداری و در همان بازه زمانی انجام می‌شود. در صورت نیاز، از نمونه‌های شاهد مانند شاهد میدانی (برای کنترل شرایط محیط) و شاهد حمل (برای پایش احتمال آلودگی در مسیر انتقال) استفاده می‌گردد. برچسب‌گذاری کامل، تکمیل فرم میدانی و فرم زنجیره انتقال الزامی است و هر رخداد غیر معمول مانند تغییر بو، رنگ یا دما باید به صورت دقیق ثبت شود.

## روش اجرایی برای آزمون‌های شیمیایی و فیزیکی

پس از بازداشتن خروجی به مدت پنج دقیقه (تخلیه اولیه)، جریان آب باید به حالت یکنواخت و آرام کاهش یابد و ظرف تمیز تا گنجایش مورد نیاز پر شود. در صورت نیاز به افزودن نگهدارنده یا تنظیم pH، این کار مطابق دستور آزمایشگاه انجام می‌شود. برای برخی آزمون‌ها مانند فلزات سنگین، ممکن است اسیدی‌سازی در آزمایشگاه انجام گیرد؛ در این موارد نمونه بدون افزودن ماده نگهدارنده ارسال می‌شود مگر آزمایشگاه خلاف آن را مشخص کرده باشد. برای جلوگیری از تغییر نتایج، تماس نمونه با نور مستقیم آفتاب و گرمای محیط باید به حداقل برسد.

## روش اجرایی برای آزمون‌های میکروبیولوژی

پس از شعله‌دهی خروجی آب، ظرف استریل بدون تماس دست با لبه داخلی یا درپوش باز می‌شود. ظرف تنها تا خط نشانه پر می‌شود و سپس درپوش بلافاصله بسته شود. اگر آب حاوی کلر باقی مانده باشد، باید از ظرف استریل حاوی تیوسولفات سدیم استفاده شود تا اثر کلر بر زنده‌مانی میکروارگانیسم‌ها خنثی شود. نمونه در همان لحظه برچسب‌گذاری شده و در شرایط زنجیره سرد قرار می‌گیرد.

## نگهداری، انتقال و زمان‌های توصیه‌شده

پس از برداشت، همه نمونه‌ها باید بلافاصله در دمای یخچال (۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شوند. انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه باید در همان روز انجام شود. نمونه‌های میکروبیولوژی باید در اولین فرصت تحلیل گردند و انجماد برای آن‌ها توصیه نمی‌شود. در هنگام حمل، ظرف در یخدان کنار یخ نگهداری می‌شود و از تماس مستقیم با قطعات یخ باید جلوگیری شود تا یخ‌زدگی موضعی رخ ندهد. زمان خروج نمونه از محل برداشت و زمان تحویل به آزمایشگاه باید در فرم زنجیره انتقال ثبت گردد.

## پساب دامداری و الزامات ویژه برای جار تست

جار تست روشی آزمایشگاهی برای تعیین مقدار و نوع مواد شیمیایی مورد نیاز در فرآیند تصفیه آب و پساب است. در این آزمایش، شرایط انعقاد و لخته‌سازی شبیه‌سازی می‌شود تا بهترین دوز مواد منعقدکننده و کمک‌منعقدکننده (Coagulant aids) مشخص گردد و میزان حذف عوامل آلاینده‌ای که مغایر با استانداردهای کیفی هستند، ارزیابی شود. پساب به دلیل ناهمگنی زمانی و مکانی نیازمند طراحی مناسب برای برداشت است. برای اجرای جار تست و آزمون‌های مرتبط، حداقل بیست لیتر نمونه تهیه می‌شود. نقطه برداشت باید جریان یکنواخت و معرف خروجی واقعی واحد باشد. نمونه در ظروف تمیز و درب‌دار جمع‌آوری می‌شود و در شرایط زنجیره سرد به آزمایشگاه منتقل می‌گردد. درباره نیاز به هم‌زدن اولیه، حذف ذرات درشت یا استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی باید از پیش با آزمایشگاه هماهنگ شود.

## کنترل کیفیت میدانی

برای ارزیابی دقت، یک نمونه تکراری میدانی از همان واحد نمونه برداری و در همان بازه زمانی برداشت می شود. در صورت ضرورت، دو نوع نمونه شاهد نیز توصیه می شود. نمونه شاهد میدانی برای پایش آلودگی محیط و نمونه شاهد حمل برای بررسی آلودگی احتمالی در طول مسیر انتقال. همچنین توصیه می شود پارامترهای میدانی شامل دما، هدایت الکتریکی، pH و در صورت امکان کلر باقی مانده در همان محل ثبت شوند.

برچسب روی هر ظرف باید حاوی اطلاعات کامل شامل کد نمونه، نوع ماتریس (آب یا پساب)، کد واحد نمونه برداری، تاریخ و ساعت برداشت، محل دقیق برداشت، نام فرد نمونه بردار و هدف آزمون باشد. این اطلاعات باید با داده های ثبت شده در فرم زنجیره انتقال تطابق کامل داشته باشند.

کد واحد نمونه برداری: شناسه ای یکتا است که به هر نمونه اختصاص می یابد. این کد باید شامل تاریخ برداشت، منبع یا محل برداشت و در صورت نیاز شماره بچ یا شیفت باشد تا رهگیری و مقایسه نتایج در مراحل بعدی امکان پذیر شود.

### مثال:

- آب چاه شماره ۲، تاریخ و شیفت صبح (W2-14040610-AM) یا (M140406102)
- پساب خروجی واحد ۱ - ۱۴۰۴/۰۶/۱۰ - شیفت عصر (E1-14040610-PM)

## خطاهای رایج و راهکارهای اصلاح

- استفاده از خروجی های دارای اتصالات یا صافی های آلوده، نمونه را مخدوش می کند و باید با جداسازی اتصالات و ضدعفونی و شعله دهی اصلاح شود.
- کاهش ندادن جریان و پرکردن پرفشار ظرف، ورود هوا و کف اضافی ایجاد می کند و باید با پرکردن آرام و یکنواخت اصلاح شود.
- برچسب گذاری ناقص یا دیر هنگام منجر به خطای انتساب می شود؛ برچسب باید بلافاصله پس از برداشت کامل شود.
- نگهداری در دمای محیط یا تأخیر در ارسال، به ویژه در نمونه های میکروبی، نتایج را تغییر می دهد. این خطا تنها با رعایت زنجیره سرد و تحویل نمونه در همان روز قابل پیشگیری است.



## بخش ششم

نمونه برداری از شیر و پایش ورم پستان



## شرح

این بخش شامل دو قسمت است:

- در گاوداری برای پایش ورم پستان تحت بالینی با آزمون کالیفرنایی ورم پستان (CMT)
- نمونه برداری استریل برای ارسال به آزمایشگاه در قالب تک کارتیه، چهار کارتیه و بالک تانک (هدف، به دست آوردن نمونه نماینده و شاخص، جلوگیری از آلودگی و حفظ زنجیره سرد به منظور اعتبار نتایج شمارش سلول های سوماتیک، کشت باکتری و سایر سنجش ها است).

### آزمون کالیفرنایی ورم پستان (California Mastitis Test – CMT)

آزمون کالیفرنایی ورم پستان بر پایه تخریب غشای سلول های سوماتیک شیر توسط یک ماده شوینده یا معرف است. با لیز شدن سلول ها، DNA و محتویات سلول آزاد می شود و با محلول واکنش داده و سبب تغییر قوام و ایجاد حالت ژله ای در شیر می شود. محلول CMT همچنین دارای یک شاخص pH است که با تغییر pH شیر تغییر رنگ می دهد. در موارد ورم پستان، pH معمولاً از محدوده طبیعی بالاتر می رود و رنگ محلول به سمت بنفش پررنگ تغییر می کند. با این حال، تفسیر اصلی آزمون بر اساس میزان ژله ای شدن و تغییر قوام نمونه است.

### مراحل اجرا

- (۱) استفاده از دستکش الزامی است و برای هر گاو باید از دستکش تمیز جداگانه استفاده شود.
- (۲) پستان و سرپستان ها از آلودگی ها پاک شوند؛ سپس با آب ولرم شسته و کاملاً خشک گردند. برای هر کارتیه از دستمال مجزا استفاده شود.
- (۳) چند دوشش ابتدایی هر کارتیه دور ریخته شود (سردوش)
- (۴) یک تا دو دوشش از هر کارتیه در خانه های مخصوص سینی CMT ریخته شود.
- (۵) به همان حجم، محلول CMT به هر خانه اضافه گردد.
- (۶) سینی به آرامی در حرکات دایره ای چرخانده شود تا محلول و شیر به صورت یکنواخت مخلوط شوند.
- (۷) حدود ۱۵ ثانیه پس از مخلوط کردن، تغییرات مشاهده و نتیجه خوانده شود.

**نکته:** برای تصمیم‌گیری قطعی، نمونه برداری استریل و ارسال شیر به آزمایشگاه جهت شمارش SCC و کشت میکروبی توصیه می‌شود.

## نمونه برداری عاری از آلودگی برای آزمایشگاه

### آمادگی و ملزومات

- ظرف استریل درب‌دار، برچسب مقاوم به رطوبت و قلم ضد آب
  - دستکش یک‌بار مصرف
  - پارچه یا حوله کتان تمیز یا دستمال کاغذی یک‌بار مصرف
  - الکل ۷۰ درصد و پنبه یا گاز استریل
  - یخدان و یخ برای زنجیره سرد
- نکته:** برچسب ظرف باید پیش از برداشت کامل شود و شامل شماره گاو، تاریخ، ساعت و کارتیبه باشد.

### مراحل نمونه برداری تک کارتیبه و چهار کارتیبه

- ۱) پستان از آلودگی‌های محیطی پاک و با آب ولرم شسته و سپس کاملاً خشک شود.
- ۲) دستکش پوشیده شود.
- ۳) چند دوشش ابتدایی هر کارتیبه دور ریخته شود.
- ۴) سرپستان در محلول پری دیپ حدود ۳۰ ثانیه قرار گیرد و سپس با دستمال تمیز خشک شود.
- ۵) ضد عفونی نهایی: نوک هر سرپستان با پنبه آغشته به الکل ۷۰ درصد تمیز شود و تا خشک شدن کامل صبر کنید.
- ۶) ظرف استریل بدون تماس دست با لبه داخلی یا درپوش باز شود. ظرف در زاویه حدود ۴۵ درجه و با فاصله مناسب از نوک سرپستان نگه داشته شود.
- ۷) ۲ تا ۳ میلی لیتر شیر در ظرف ریخته شود. در نمونه برداری چهار کارتیبه، هر کارتیبه در ظرف جداگانه جمع‌آوری شود و برچسب‌ها دقیق باشند.
- ۸) بلافاصله پس از برداشت، سرپستان با پست دیپ ضد عفونی شود.
- ۹) درب ظرف‌ها فوراً بسته و در یخدان کنار یخ خشک قرار گیرند.

## نگهداری و انتقال

نمونه‌ها بلافاصله سرد شوند. اگر تا زمان کشت بیش از ۲۴ تا ۴۸ ساعت فاصله وجود دارد، نمونه باید در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود. با این حال باید توجه داشت که برخی باکتری‌های گرم منفی (مانند کلی‌فرم‌ها) و نیز مایکوپلاسما و نوکاردیا در نگهداری طولانی‌مدت کاهش می‌یابند؛ بنابراین بهترین روش، تحویل سریع نمونه به آزمایشگاه و آغاز کشت در اولین فرصت است. انتقال همیشه باید در یخدان و همراه یخ خشک انجام شود.

## نمونه‌برداری از بالک‌تانک

### زمان و آماده‌سازی

نمونهٔ بالک‌تانک باید معرف یک وعدهٔ دوشش کامل باشد. برداشت در فاصلهٔ یک تا دو ساعت پس از پایان شیردوشی انجام گیرد تا شاخص‌های حساس به زمان و دما به صورت استاندارد ارزیابی شوند. پیش از برداشت، شیر داخل تانک باید ۵ تا ۱۰ دقیقه همزده شود تا چربی و فاز جامد یکنواخت شوند.

### روش برداشت

نمونه‌گیری باید از لایهٔ میانی شیر پس از همزدن کامل انجام گیرد؛ برداشت صرفاً از سطح، به دلیل احتمال سوگیری و عدم نمایندگی از کل حجم شیر، توصیه نمی‌شود. مقدار معمول مورد نیاز حدود ۲۰۰ تا ۳۰۰ میلی‌لیتر است. برای افزایش دقت و کاهش خطا، نمونه بهتر است بلافاصله در دو ظرف استریل مجزا تقسیم شود. انتقال هر دو ظرف در شرایط زنجیرهٔ سرد انجام می‌گیرد تا نیاز به تقسیم در آزمایشگاه به حداقل برسد. این اقدام موجب کاهش آلودگی متقاطع، محدود شدن خطای انسانی و فراهم کردن امکان اجرای آزمایش‌های متعدد در بخش‌های مختلف آزمایشگاه می‌شود (ظرف بیشتر موجب کاهش آلودگی‌های متقاطع و خطای انسانی کمتر می‌شود).

## نکات ویژه نگهداری و ممنوعیت‌ها

فریز کردن نمونهٔ شیر بالک‌تانک ممنوع است، زیرا می‌تواند موجب کاهش شمار باکتری‌های گرم منفی و تغییر در SCC گردد. برای سنجش‌هایی که نسبت به زمان و دما حساس هستند، ارسال سریع و رعایت زنجیرهٔ سرد ضروری است.

### مستندسازی و برچسب‌گذاری

برچسب هر ظرف باید شامل کد نمونه، نوع نمونه (تک‌کارتیه، چهارکارتیه یا بالک‌تانک)، شماره یا نام گاو در صورت لزوم، شمارهٔ کارتیه (راست جلو یا چپ عقب و ...)، تاریخ و ساعت برداشت، نام مسئول، هدف آزمون و شرایط نگهداری باشد. فرم زنجیرهٔ انتقال باید تکمیل و شامل مشخصات تحویل‌دهنده و گیرنده، دمای حمل و زمان‌های خروج و ورود باشد. در مورد بالک‌تانک، زمان آخرین شیردوشی، مدت و زمان همزنی و دمای شیر در هنگام برداشت نیز ثبت گردد.

### کنترل کیفیت میدانی

نمونهٔ تکراری میدانی در همان بازهٔ زمانی برای سنجش دقت برداشت توصیه می‌شود. به‌ویژه در نمونه‌برداری‌های استریل، رعایت شرایط استریل و جلوگیری از تماس دست با لبهٔ ظرف حیاتی است. در صورت امکان، کنترل‌هایی برای پایش آلودگی محیطی نیز انجام شود.

### خطاهای رایج و راهکارهای اصلاح

- عدم خشک شدن کامل پس از ضدعفونی نوک سرپستان باعث رقیق شدن اثر ضدعفونی و آلودگی نمونه می‌شود؛ باید زمان کافی برای خشک شدن در نظر گرفته شود.
- تماس دست یا موی حیوان با لبهٔ ظرف سبب آلودگی می‌شود؛ نگه‌داشتن ظرف در زاویهٔ مناسب از این خطا جلوگیری می‌کند.
- برداشت از سطح بالک‌تانک پس از همزدن ناکافی باعث سوگیری می‌شود؛ همزنی کامل و برداشت از عمق میانی ضروری است.
- نگهداری در دمای محیط یا ارسال دیر هنگام موجب کاهش بازیابی باکتری‌ها و تغییر SCC می‌شود؛ تنها زنجیرهٔ سرد و تحویل سریع می‌تواند از این خطا جلوگیری کند.

برای کشت میکروارگانیسم‌های عامل ورم پستان، نمونه‌گیری باید کاملاً آسپتیک (عاری از باکتری و میکروب) انجام شود. انجام مراحل زیر به جلوگیری از آلودگی نمونه در زمان نمونه‌برداری کمک می‌کند.



۲ پستان باید تمیز و خشک باشد.



۱ روی لوله استریل با مایک ضد آب شماره گذاری و تاریخ و کارتیبه پستان مورد نمونه‌گیری را درج کنید.

**وسایل مورد نیاز**  
لوله و ظروف نمونه‌گیری استریل  
مایک ضد آب برای برچسب  
گار استریل  
الکل ۷۰ درصد (ایزوپروپیل)  
دستمال کاغذی  
ظرف تزریق برای نگهداشتن لوله‌های نمونه  
په‌دان یا پمپ‌های انحراف



۵ لوله کشی را در دست بگیرید و هر آن را بدون تماس با داخل درب لوله لوله‌ها را کنید.



۴ از نزدیک‌ترین سرپستان مدخل شروع کرده و ۱۵ ثانیه‌ای بعد از شش سرپستان را از هر سرپستان پوشیده و دور بریزید.



۳ نوک هر سرپستان را با یک گاز تمهید آغشته به الکل ۷۰ درصد کافیه تمیز کنید. از دورترین گاز تمهید به خودتان شروع کنید و هر پاژان به نزدیک‌ترین گاز تمهید برسانید.

**مراحل ۹ تا ۷ را برای هر سرپستان به ترتیب انجام دهید و از نزدیک‌ترین به دورترین سرپستان حرکت کنید.**



۷ درب را بسته و لوله را در جهت خارج خشک قرار دهید. در صورت نگهداری طولانی‌تر، مجدداً کنید.



۶ لوله را کمی از اتصال جدا کنید تا از رطوبت محیط وارد نشود و مراقب باشید لوله لوله به نوک سرپستان برخورد چند دقیقه‌ای شیر را داخل لوله پوشیده لوله را تا لوله درب پر نکنید.

## شکل ۴: نمونه‌گیری آسپتیک شیر از هر کارتیبه پستان



## بخش هفتم

نمونه برداری از خون



## شرح

این دستورالعمل به روش‌های نمونه برداری خون در گاوداری می‌پردازد و برای مقاصدی همچون هماتولوژی، بیوشیمی بالینی، سرولوژی، سم‌شناسی، آزمون‌های مولکولی (PCR) و ایمنی‌شناسی به کار می‌رود. در این فرایند، انتخاب محل مناسب خون‌گیری، انتخاب صحیح لوله بر اساس نوع آزمون، جداسازی و نگهداری درست نمونه و ثبت دقیق اطلاعات اهمیت ویژه‌ای دارد.

## انتخاب محل خون‌گیری

محل‌های متداول خون‌گیری شامل ورید ژوگولار، ورید دمی، ورید پستانی و ورید گوش هستند. از نظر رفاه دام و سهولت در مقیدسازی، ورید دمی ترجیح داده می‌شود. در پروفایل‌های متابولیک توصیه می‌شود خون‌گیری از ورید ژوگولار و پستانی انجام نشود و به صورت اختصاصی از ورید دمی استفاده گردد تا نتایج دقیق‌تر باشند.

## تفاوت سرم و پلاسما

سرم و پلاسما هر دو بخش مایع خون هستند، اما تفاوت آن‌ها در نحوه جمع‌آوری و ترکیب‌شان اهمیت زیادی در انتخاب روش نمونه برداری دارد.

سرم (Serum): خون پس از قرار گرفتن در لوله‌های بدون افزودنی یا لوله‌های ژل‌دار، به‌طور طبیعی لخته می‌شود. با سانتریفیوژ، مایع زردرنگی که جدا می‌شود سرم نام دارد. سرم فاقد فیبرینوژن و بسیاری از فاکتورهای انعقادی است، زیرا این مواد در فرایند لخته‌سازی مصرف می‌شوند. سرم عمدتاً در آزمایش‌های بیوشیمیایی، هورمونی و سرولوژی به کار می‌رود.

پلاسما (Plasma): برای تهیه پلاسما، خون باید در لوله‌های حاوی ماده ضدانعقاد (مانند EDTA، هپارین یا سیترات) جمع‌آوری شود. پس از سانتریفیوژ، مایع رویی که جدا می‌شود پلاسما است. پلاسما برخلاف سرم، حاوی فیبرینوژن و فاکتورهای انعقادی است. از این نمونه در آزمایش‌های انعقادی، هماتولوژی و برخی بررسی‌های بیوشیمیایی مانند الکترولیت‌ها و گازهای خون استفاده می‌شود.

## انتخاب لوله و معنای رنگ‌ها

### لوله‌های بدون ضدانعقاد

- **قرمز:** برای تهیه سرم، پس از لخته شدن باید سانتریفیوژ شده و سرم جدا شود.
- **لوله زرد (ژل دار):** این لوله حاوی فعال‌کننده لخته و ژل جداساز است. فعال‌کننده باعث تسریع فرآیند لخته‌شدن خون می‌شود و ژل پس از سانتریفیوژ به صورت یک سد پایدار بین سرم و لخته قرار می‌گیرد. مزیت اصلی این لوله آن است که سرم به‌طور تمیز و یکنواخت از سلول‌ها جدا شده و دیگر نیازی به انتقال دستی سرم یا خطر آلودگی و اختلاط با گلبول‌ها وجود ندارد. استفاده از این لوله خطای انسانی را کاهش داده، پایداری سرم را افزایش می‌دهد و امکان انجام چندین آزمون شیمیایی و سروولوژی را بدون افت کیفیت نمونه فراهم می‌سازد.

### لوله‌های دارای ضدانعقاد

- **بنفش (EDTA):** مناسب برای آزمایش خون‌شناسی (CBC) و بسیاری از آزمون‌های مولکولی. پس از خون‌گیری باید چند بار به آرامی وارونه شود تا ضدانعقاد به صورت یکنواخت مخلوط گردد.
- **سبز (هیپارین):** برای برخی آزمون‌های بیوشیمی اختصاصی و آزمون گاما اینترفرون کاربرد دارد. مانند EDTA، پس از خون‌گیری باید به آرامی وارونه شود.

## برچسب‌گذاری و مستندسازی

پیش از خون‌گیری، برچسب هر لوله باید کامل شود و شامل کد نمونه، تاریخ و ساعت، شناسه دام، محل خون‌گیری، نوع لوله و آزمون موردنظر باشد. در فرم میدانی نیز هدف آزمون، وضعیت تغذیه‌ای مرتبط، رخدادهای غیرمعمول و نام فرد نمونه‌بردار ثبت می‌شود. اطلاعات زنجیره انتقال شامل زمان خروج نمونه از محل، شرایط حمل و زمان تحویل به آزمایشگاه تکمیل می‌گردد.

## تطابق نوع لوله با آزمایش‌ها

- لوله قرمز (سرم): برای بیشتر آزمون‌های بیوشیمی و سرولوژی به کار می‌رود؛ پس از لخته‌شدن خون و سانتریفیوژ، سرم جدا می‌شود و برای سنجش موادی مانند آنزیم‌ها، هورمون‌ها و عناصر معدنی استفاده می‌شود.
- لوله زرد (سرم ژل‌دار): همان کاربرد لوله قرمز را دارد، با این تفاوت که ژل موجود در آن پس از سانتریفیوژ به عنوان یک سد عمل کرده و سرم را از سلول‌ها جدا نگه می‌دارد، بنابراین حمل‌ونقل و نگهداری نمونه ساده‌تر می‌شود.
- لوله بنفش (EDTA): برای خون‌شناسی (CBC) و بسیاری از آزمون‌های مولکولی مناسب است، چون ضدانعقاد EDTA مانع لخته‌شدن خون شده و امکان شمارش دقیق سلول‌ها یا استخراج DNA فراهم می‌شود.
- لوله سبز (هپارین): برای برخی آزمون‌های بیوشیمی خاص یا سنجش‌های ایمنی مانند گاما اینترفرون استفاده می‌شود. هپارین به عنوان ضدانعقاد عمل می‌کند اما بر خلاف EDTA کمتر در واکنش‌های آنزیمی تداخل ایجاد می‌کند.
- PCR: در بیماری‌هایی مثل تب برفکی یا آنابلاسموز، خون کامل در لوله‌های EDTA یا هپارین بهترین گزینه است. استفاده از سرم برای PCR تنها زمانی انجام می‌شود که آزمایشگاه صراحتاً درخواست کند.

## جمع‌آوری، لخته‌شدن، جداسازی و نگهداری نمونه‌های خون

پس از خون‌گیری در لوله‌های دارای ضدانعقاد، لوله باید بلافاصله چند مرتبه به آرامی وارونه شود تا خون با ماده ضدانعقاد به صورت یکنواخت مخلوط گردد. تکان شدید یا تکان دادن طولانی ممنوع است، زیرا موجب همولیز و تخریب سلولی می‌شود. پرکردن لوله تا خط نشانه ضروری است؛ کم یا زیاد بودن حجم خون تعادل با ضدانعقاد را بر هم می‌زند و نتیجه آزمون را مخدوش می‌کند.

برای لوله‌های سرم (قرمز یا زرد)، نمونه باید در دمای محیط فرصت کافی برای لخته‌شدن پیدا کند. سپس با سانتریفیوژ، سرم جدا و منتقل شود. تأخیر در جداسازی بیش از دو تا سه ساعت، به‌ویژه در آزمون‌های حساس، باعث تغییر غلظت برخی مواد مورد سنجش (مثل گلوکز و آنزیم‌ها) می‌شود.

در نگهداری کوتاه‌مدت (تا ۲۴ ساعت)، نمونه یا سرم در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد مناسب است. در صورت تأخیر بیش از ۲۴ ساعت، سرم یا پلاسما باید در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد فریز شود. از چرخه‌های مکرر انجماد و ذوب باید پرهیز گردد، زیرا موجب تخریب پروتئین‌ها و تغییر نتایج می‌شود.

### نکات اختصاصی متابولیک پروفایل

- در صورت تغییر عمده در جیره، نمونه‌برداری باید دست‌کم دو هفته پس از تغییر انجام شود؛ برای تغییرات جزئی هفت تا ده روز کافی است.
- در جیره‌های مبتنی بر سیلاژ، بهترین زمان خون‌گیری پیش از خوراک اول صبح یا در حین آن است. اگر پس از تغذیه صبحگاهی خون‌گیری انجام می‌شود، بازه دو تا پنج ساعت بعد مناسب‌ترین زمان است.
- برای سنجش NEFA، نمونه‌برداری پیش از خوراک بهترین نتایج را نشان می‌دهد، زیرا سطح NEFA در این زمان بالاتر است. برای این آزمون باید از لوله‌های قرمز استفاده شود؛ استفاده از لوله‌های زرد یا سبز توصیه نمی‌شود.
- سرم باید حداکثر ظرف دو تا سه ساعت پس از خون‌گیری جدا شود. برای نگهداری کوتاه‌مدت دمای ۴ درجه و برای بلندمدت دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد الزامی است.

### حمل و نقل

نمونه‌ها باید بلافاصله پس از خون‌گیری در شرایط زنجیره سرد قرار گیرند. حمل با یخدان و یخ خشک انجام شود و لوله‌ها به گونه‌ای چیده شوند که تماس مستقیم با قطعات یخ نداشته باشند و یخ‌زدگی موضعی رخ ندهد. زمان خروج نمونه‌ها از محل برداشت و زمان تحویل به آزمایشگاه باید دقیق ثبت شود.

### کنترل کیفیت میدانی

برای اطمینان از دقت نمونه‌برداری خون، بهتر است بخشی از گاوها دوباره به‌عنوان نمونه تکراری بررسی شوند. مهم‌ترین خطاهای میدانی معمولاً شامل همولیز، باقی‌ماندن لخته‌های ریز در لوله‌های ضدانقباض و ناقص بودن برچسب‌ها است. این خطاها را می‌توان با پرکردن درست لوله تا خط نشانه، وارونه کردن آرام لوله بلافاصله پس از خون‌گیری و تکمیل

برچسب‌ها پیش از شروع کار برطرف کرد. در صورت امکان، استفاده از مواد مرجع و کنترل‌های داخلی آزمایشگاه نیز به افزایش اعتبار نتایج کمک می‌کند.

### خطاهای رایج و راهکارهای اصلاح

- برچسب‌گذاری ناقص یا دیر هنگام: باعث خطای انتساب می‌شود و باید همیشه پیش از خون‌گیری برچسب کامل شود.
- پرنشدن لوله تا خط نشانه: نسبت خون به ضدانعقاد را تغییر می‌دهد و نتایج را مخدوش می‌کند؛ لوله باید دقیقاً تا خط مشخص پر شود.
- تکان شدید یا کشیدن سریع با سرنگ: موجب همولیز می‌شود و باید پرهیز شود.
- تأخیر در جداسازی سرم: تغییر غلظت ماده مورد سنجش را به دنبال دارد و باید با جداسازی به موقع اصلاح گردد.
- انتخاب نادرست محل خون‌گیری در متابولیک پروفایل: سبب سوگیری نتایج می‌شود؛ برای این آزمون به صورت اختصاصی باید از ورید دمی استفاده شود.

**جدول ۱: تطابق نوع لوله با آزمایش**

| آزمایش                                       | ابزار/ظرف<br>(لوله/رنگ)                                                                   | نوع نمونه                               | حداقل حجم<br>پیشنهادی              | نکات کلیدی و<br>ممنوعیت‌ها                                                                                                                                                                 |
|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| گلوپاتینون<br>پراکسیداز<br>(GSH-Px)          | سبز (هیپارین<br>لیتیم)                                                                    | خون کامل                                | 2 mL<br>خون کامل                   | فقط خون کامل هیپارینه؛ سرم<br>یا EDTA مناسب نیست.<br>وارونه‌سازی ملایم؛ از سرمای<br>شدید و مستقیم اجتناب شود.                                                                              |
| روی (Zn)،<br>مس (Cu)                         | آبی<br>Trace Element)<br>بدون ضدانقاد یا سبز<br>(هیپارین لیتیم<br>مخصوص Trace<br>Element) | سرم<br>(ترجیح) یا<br>پلاسمای<br>هیپارین | 1-2 mL<br>سرم/ پلازما              | حتماً از لوله Royal Blue<br>استفاده شود. از همولیز و<br>تماس با فلزات پرهیز گردد.                                                                                                          |
| آهن (Fe)                                     | قرمز (لخته) یا<br>زرد (ژل‌دار)                                                            | سرم                                     | 1 mL<br>سرم                        | همولیز باعث نتایج کاذب می‌شود<br>(بیش برآورد)؛ لخته‌سازی کامل،<br>جداسازی تمیز.                                                                                                            |
| پروژسترون                                    | قرمز (لخته) یا<br>زرد (ژل‌دار)                                                            | سرم                                     | 1 mL<br>سرم                        | نگهداری خنک؛ از همولیز<br>پرهیز شود.                                                                                                                                                       |
| هاپتوگلوبین                                  | قرمز (لخته) یا<br>زرد (ژل‌دار)                                                            | سرم                                     | 1 mL<br>سرم                        | سرم ارجح؛ در برخی کیت‌ها<br>پلاسمای هیپارین قابل قبول<br>است.                                                                                                                              |
| ALT<br>(SGPT)<br>AST<br>(SGOT)               | قرمز (لخته) یا<br>زرد (ژل‌دار) یا<br>سبز (هیپارین)                                        | سرم یا<br>پلازما                        | 0/5-1 mL                           | EDTA ممنوع؛ سرم یا<br>پلاسمای هیپارین مناسب<br>است.                                                                                                                                        |
| منیزیم<br>(Mg)                               | قرمز (لخته) یا<br>زرد (ژل‌دار)                                                            | سرم                                     | 0/5-1 mL                           | استفاده از لوله‌های EDTA<br>مجاز نیست، چون EDTA<br>کلسیم و منیزیم را به خود<br>جذب می‌کند و نتایج کاذب<br>(کاهش برآورد) می‌دهد. در<br>این آزمایش‌ها لوله‌های<br>هیپارین قابل استفاده هستند |
| کلسیم (Ca)                                   | قرمز (لخته) یا<br>زرد (ژل‌دار)                                                            | سرم                                     | 0/5-1 mL                           | EDTA ممنوع (کیلیت کلسیم).<br>هیپارین قابل قبول است.                                                                                                                                        |
| تست‌های<br>روتین<br>سرم‌شناسی<br>(HI, ELISA) | قرمز (لخته) یا<br>زرد (ژل‌دار)                                                            | سرم/ شیر<br>(در موارد<br>خاص)           | سرم:<br>1-2 mL<br>شیر:<br>۱۰-۲۰ mL | برای ELISA سرمی: سرم<br>ارجح ELISA. بر پایه شیر<br>فقط اگر آزمایشگاه/ کیت تأیید<br>کند. ظرف استریل برای شیر.                                                                               |

| آزمایش                   | ابزار/ظرف (لوله/رنگ)        | نوع نمونه | حداقل حجم پیشنهادی | نکات کلیدی و ممنوعیت‌ها                                                                                                                                                      |
|--------------------------|-----------------------------|-----------|--------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| CBC (خون‌شناسی روتین)    | بنفش (EDTA)                 | خون کامل  | 1 mL<br>خون کامل   | لوله باید بلافاصله ۸-۱۰ بار به آرامی وارونه شود. از ایجاد لخته یا همولیز باید جلوگیری شود.                                                                                   |
| تست گاما اینترفرون       | سبز (هپارین لیتیم)          | خون کامل  | 4 mL<br>خون کامل   | فقط خون تازه هپارینه مناسب است. تحریک آنتی ژنی و انکوباسیون باید در بازه زمانی مشخص شده در کیت (معمولاً $\geq ۲۴$ ساعت) انجام گیرد.                                          |
| PCRهای روتین             | بنفش (EDTA) یا سبز (هپارین) | خون کامل  | 1-2 mL<br>خون کامل | سرم به‌طور معمول برای PCR مناسب نیست مگر با درخواست کتبی آزمایشگاه. نمونه باید در زنجیره سرد منتقل شود.                                                                      |
| PCR آناپلاسموز           | بنفش (EDTA) یا سبز (هپارین) | خون کامل  | 1-2 mL<br>خون کامل | استفاده از EDTA ارجح است. نمونه باید خنک نگهداری و سریع به آزمایشگاه ارسال شود.                                                                                              |
| PCR تب برفکی (FMD)       | بنفش (EDTA) ارجح            | خون کامل  | 1-2 mL<br>خون کامل | برای تشخیص FMD، نمونه‌های اپیتلیوم، مایع وزیکول یا سوآپ حلقی معمولاً حساس‌تر از خون هستند؛ با این حال در مراحل اولیه بیماری، خون نیز می‌تواند طبق دستور آزمایشگاه بررسی شود. |
| PCR پاتوژن‌های ورم پستان | ظرف استریل درب‌دار          | شیر       | 10-20 mL<br>شیر    | شیر باید به روش بهداشتی دوشیده و در ظرف استریل جمع‌آوری شود. انتقال در زنجیره سرد انجام گیرد. از فریز ناگهانی پرهیز شود مگر آن‌که آزمایشگاه دستور داده باشد.                 |

## نکات کلیدی در نمونه‌برداری خون

- PCR: همواره پیش از خون‌گیری، درباره نوع لوله، حجم مورد نیاز و شرایط حمل (دمای نگهداری، زمان ارسال) با آزمایشگاه هماهنگ کنید؛ برخی کیت‌های تشخیصی شرایط ویژه‌ای مانند حجم مشخص نمونه، نوع لوله معین یا دمای حمل خاص را الزامی می‌کنند؛ بنابراین پیش از نمونه‌برداری باید جزئیات دقیق با آزمایشگاه هماهنگ شود.
- آنزیم‌ها و الکترولیت‌ها: آزمون‌های ALT و AST نباید با لوله‌های EDTA انجام شوند. همچنین کلسیم و منیزیم در حضور EDTA دچار خطا می‌شوند.
- همولیز: در همه موارد، همولیز می‌تواند نتایج را کاملاً مخدوش کند. خون‌گیری باید با ملایمت و حمل در شرایط مناسب انجام شود تا از تخریب سلولی جلوگیری گردد.

## بخش هشتم

نمونه برداری از مدفوع



## شرح

نمونه‌برداری مدفوع ابزاری کلیدی برای شناسایی علت‌های اسهال در گوساله و گاو و همچنین بررسی انگل‌ها، باکتری‌های بیماری‌زا و عوامل قابل تشخیص با روش‌های مولکولی است. دقت این آزمون‌ها به تازگی نمونه، جلوگیری از آلودگی، انتخاب ظرف مناسب، برچسب‌گذاری کامل و رعایت زنجیره سرد بستگی دارد.

## تجهیزات و شرایط عمومی

ابزار مورد نیاز برای نمونه‌برداری مدفوع شامل ظرف استریل درب‌دار و بدون نشت، سواپ استریل در صورت نیاز، سرم فیزیولوژی یا محلول پیتونه استریل برای نگهداری سواپ، دستکش یک‌بار مصرف، برچسب مقاوم، قلم ضدآب و یخدان حاوی یخ است. استفاده از دستکش هنگام برداشت الزامی است، اما قرار دادن نمونه داخل دستکش به جای ظرف استریل یک خطای جدی به شمار می‌رود. همچنین همه ابزار و سطوح باید تمیز، خشک و غیر متخلخل باشند و از تماس نمونه با خاک، کاه یا بستر کاملاً اجتناب شود.

## مقدار و تازگی نمونه

برای آزمون‌های انگل‌شناسی، دست‌کم ۱۵ گرم مدفوع تازه لازم است. در آزمون‌های باکتریولوژی و مولکولی نیز تازگی نمونه اهمیت حیاتی دارد. در صورت استفاده از سواپ، باید بلافاصله پس از برداشت در ظرف استریل حاوی سرم فیزیولوژی یا آب پیتونه قرار گیرد.

## روش نمونه‌برداری متناسب با هدف

- تشخیص عوامل اسهال و کشت میکروبی: نمونه باید مستقیماً از رکتوم برداشت شود تا آلودگی محیطی به حداقل برسد.
- انگل‌شناسی (تخم انگل): نمونه تازه و حداقل ۱۵ گرم مدفوع در ظرف استریل جمع‌آوری و در کنار یخ منتقل شود.
- آزمون‌های مولکولی (PCR): روش برداشت همانند موارد فوق است. در صورتی که آزمایشگاه دستور ویژه‌ای در مورد دما یا محیط نگهداری داشته باشد، باید مطابق آن عمل شود.

### نمونه مخلوط (Pool sample)

اگر هدف بررسی گروهی یا صرفه‌جویی در هزینه باشد، ابتدا نمونه هر دام باید به صورت فردی و در ظرف استریل جمع‌آوری شود. سپس برای تشکیل نمونه مخلوط، از هر نمونه مقدار مساوی (برای مثال ۴۰ گرم) برداشته و مخلوط گردد. این کار تنها زمانی مجاز است که برچسب‌گذاری و نگهداری نمونه‌های فردی به صورت کامل انجام شده باشد تا امکان ردیابی حفظ شود.

### برچسب‌گذاری و مستندسازی

بر روی هر ظرف باید کد نمونه، تاریخ و ساعت برداشت، شناسه دام، محل برداشت (رکتالی یا از مدفوع تازه)، هدف آزمون و شرایط نگهداری نوشته شود. در فرم میدانی نیز رخدادهای غیرمعمول، زمان شروع اسهال و درمان‌های اخیر ثبت گردد. زنجیره انتقال شامل زمان خروج از محل برداشت، شرایط حمل و زمان تحویل به آزمایشگاه باید تکمیل شود.

### نگهداری و انتقال

نمونه‌ها باید بلافاصله پس از برداشت در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد و در کنار یخ نگهداری شوند و در همان روز به آزمایشگاه برسند. فریز کردن نمونه به صورت کلی توصیه نمی‌شود، مگر اینکه آزمایشگاه برای یک آزمون خاص دستور داده باشد. ظرف استریل باید به گونه‌ای محکم بسته شود که احتمال نشت یا آلودگی به صورت کامل برطرف گردد.

### کنترل کیفیت میدانی

برای سنجش دقت کار، بهتر است از بخشی از دام‌ها نمونه تکراری گرفته شود. در صورت لزوم می‌توان نمونه شاهد برای کنترل آلودگی محیطی به کار برد. همچنین برچسب‌گذاری کامل و خوانا، ثبت دقیق اطلاعات در فرم‌های میدانی و رعایت زنجیره انتقال برای اطمینان از صحت نتایج ضروری است.

## خطاهای رایج و راهکارهای اصلاح

یکی از خطاهای شایع در نمونه‌برداری مدفوع، انتقال نمونه در داخل دستکش به جای ظرف استریل است که نه تنها احتمال نشت دارد بلکه آلودگی محیطی را نیز افزایش می‌دهد؛ بنابراین باید همیشه از ظرف درب‌دار استریل استفاده شود. خطای دیگر، برداشت نمونه از روی زمین یا از مدفوع کهنه است که به علت آلودگی و تغییر میکروبی کیفیت لازم را ندارد و باید از مدفوع تازه، ترجیحاً به صورت رکتالی، استفاده شود. همچنین نگهداری نمونه در دمای محیط یا ارسال دیر هنگام باعث تغییر در جمعیت میکروبی و کاهش دقت نتایج می‌شود؛ تنها راه درست، قرار دادن نمونه در زنجیره سرد و تحویل آن به آزمایشگاه در همان روز است. در نهایت، برچسب‌گذاری ناقص یا ناخوانا منجر به خطای انتساب می‌شود و باید بلافاصله پس از برداشت تکمیل گردد.



## بخش نهم

نمونه برداری از ادرار در گاوهای



## شرح

نمونه‌گیری ادرار یکی از روش‌های کلیدی در ارزیابی وضعیت تعادل کاتیون-آنیون جیره (DCAD) و پایش pH ادرار به ویژه در گاوهای خشک است.

## نحوه اخذ نمونه

نمونه باید مستقیماً از جریان طبیعی ادرار تازه جمع‌آوری شود. برای تحریک به ادرار، می‌توان به آرامی ناحیه بین فرج و کفل را ماساژ داد تا گاو به دفع ادرار ترغیب شود. به محض آغاز جریان، ظرف تمیز یا استریل در زیر جریان قرار داده می‌شود و نمونه بدون تماس با بستر، خاک یا دستکش جمع‌آوری می‌گردد. در صورت قطع جریان، از تحریک مجدد استفاده شود. انتقال نمونه به ظرف اصلی باید بلافاصله پس از برداشت انجام شود.

## حجم و شرایط نگهداری

- برای سنجش pH، نمونه‌ای با حجم ۱۰ تا ۲۰ میلی‌لیتر کفایت می‌کند و اندازه‌گیری باید همان لحظه در محل، با نوارهای کالیبره یا الکتروود pH انجام شود. نگهداری حتی کوتاه‌مدت می‌تواند موجب تغییر pH گردد.
- برای آزمون‌های DCAD (مانند سدیم، پتاسیم، کلر و سولفات)، حجم ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌لیتر در ظروف پلاستیکی یا شیشه‌ای درب‌دار توصیه می‌شود. نمونه باید در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری و ظرف ۲۴ تا ۴۸ ساعت به آزمایشگاه تحویل شود. در صورت نیاز به نگهداری طولانی‌تر، امکان انجماد در منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد مطابق دستور آزمایشگاه وجود دارد.



## بخش دهم

نمونه برداری از گوش (Ear Notch) برای پایش BVD



## شرح

### هدف و دامنه کاربرد

این روش برای برداشت بافت از لبه گوش گوساله به منظور شناسایی دام‌های آلوده به ویروس اسهال ویروسی گاو (BVDV) به کار می‌رود. موفقیت آزمون وابسته به انتخاب درست محل نمونه‌برداری، ثبت دقیق شناسه دام، جلوگیری از آلودگی ناشی از مواد ضدعفونی‌کننده و رعایت کامل زنجیره سرد است.

### تجهیزات و آماده‌سازی

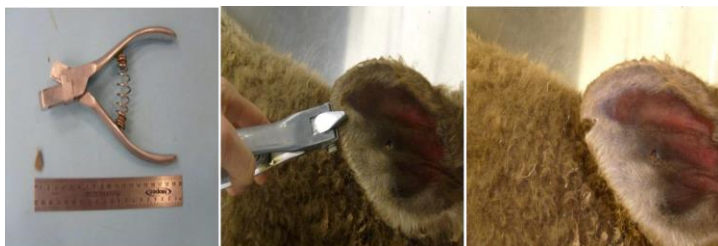
ابزار مورد نیاز شامل پانچ گوش سالم و تمیز، ویال یا ظرف کوچک و محکم با درب ایمن، برچسب مقاوم و قلم ضدآب، دستکش یک‌بار مصرف، محلول ضدعفونی مناسب برای ابزار، آب تمیز جهت شست‌وشوی باقی‌مانده ضدعفونی‌کننده و یخدان حاوی یخ برای حمل نمونه است. پیش از شروع کار، باید برچسب ویال تکمیل و مشخصات دام روی آن درج شود.

### برچسب‌گذاری و مستندسازی

روی ویال باید شناسه گوساله، تاریخ و ساعت برداشت، گوش مورد نمونه‌برداری (چپ یا راست)، نام فرد نمونه‌بردار و هدف آزمون درج شود. در فرم میدانی نیز مشخصات دامداری، جایگاه، سن حیوان، هرگونه درمان یا واکسیناسیون اخیر و رخدادهای غیرمعمول ثبت گردد. اطلاعات زنجیره انتقال شامل زمان خروج نمونه از دامداری و زمان تحویل به آزمایشگاه تکمیل شود.

### روش اجرایی

ابتدا دام با روش ایمن مقید می‌شود و فرد نمونه‌بردار دستکش تازه می‌پوشد. پانچ در محلول ضدعفونی غوطه‌ور شده و سپس با آب تمیز شسته می‌شود تا اثری از ماده شیمیایی باقی نماند، زیرا باقی‌ماندن ضدعفونی‌کننده می‌تواند موجب نتایج منفی کاذب شود. نقطه‌ای از لبه گوش که فاقد عروق خونی قابل مشاهده است انتخاب و با پانچ، قطعه‌ای کوچک اما کافی از بافت جدا می‌شود. نمونه باید بلافاصله در ویال برچسب‌خورده قرار گیرد و درب آن محکم بسته شود. در صورت برداشت نمونه‌های متوالی، ابزار پس از هر بار استفاده ضدعفونی، شست‌وشو و خشک شود.



شکل ۵: روش اجرایی نمونه‌برداری از گوش (Ear Notch) برای پایش BVD

## نگهداری و انتقال

نمونه‌ها در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد (یخچال) نگهداری می‌شوند و حداکثر تا ۷۲ ساعت قابل استفاده هستند. برای ارسال، ویال‌ها در یخدان، کنار یخ قرار داده می‌شوند، اما باید از تماس مستقیم نمونه با یخ که منجر به یخ‌زدگی موضعی می‌شود پرهیز گردد. انتقال باید در کوتاه‌ترین زمان ممکن به آزمایشگاه انجام شود.

## کنترل کیفیت میدانی

سلامت و تیزی تیغهٔ پانچ پیش از کار بررسی شود. ابزار پس از هر برداشت ضدعفونی و سپس با آب شسته شود تا هیچ باقیمانده‌ای از مواد شیمیایی روی آن باقی نماند. برچسب‌گذاری باید بلافاصله پس از برداشت انجام گیرد و در صورت برداشت هم‌زمان از چند گوساله، تطابق کد دام و ویال دوبار کنترل شود.

## خطاهای رایج و راهکارهای اصلاح

- باقی‌ماندن اثر ضدعفونی‌کننده روی ابزار می‌تواند موجب نتیجهٔ منفی کاذب شود؛ شست‌وشوی کامل ابزار پس از ضدعفونی الزامی است.
- برچسب‌گذاری ناقص یا دیرنگام موجب خطای انتساب نمونه می‌شود؛ برچسب باید پیش از برداشت تکمیل گردد.
- نگهداری در دمای محیط یا ارسال با تأخیر باعث کاهش کیفیت بافت می‌شود؛ رعایت زنجیرهٔ سرد و تحویل سریع ضروری است.
- انتخاب ناحیه دارای عروق یا برداشت بسیار کم از لبهٔ گوش می‌تواند منجر به خونریزی یا ناکافی بودن نمونه شود؛ ناحیهٔ بدون عروق انتخاب و در صورت خونریزی، فشار موضعی اعمال گردد.

## بخش یازدهم

نمونه برداری خون در طیور و مرغداری ها



## شرح

این بخش به تشریح روش علمی و اجرایی نمونه‌برداری خون در طیور برای آزمون‌های سرولوژیک مانند HI و ELISA و همچنین سایر سنجش‌های آزمایشگاهی اختصاص دارد. اعتبار نتایج سرولوژی به شدت وابسته به انتخاب درست و تصادفی پرندگان، تعیین تعداد کافی نمونه‌ها، اجرای صحیح خون‌گیری، جداسازی به‌موقع سرم، نگهداری در شرایط مناسب و انتقال در زنجیره سرد است. رعایت این مراحل در سطح فارم، اساس اعتماد به نتایج آزمایشگاهی محسوب می‌شود. این دستورالعمل ویژه نمونه‌برداری از پرندگان سالم است، زیرا هدف اصلی آن پایش وضعیت ایمنی و ارزیابی واکسیناسیون گله می‌باشد. خون‌گیری از پرندگان بیمار یا ضعیف می‌تواند باعث بروز نتایج گمراه‌کننده در آزمون‌های سرولوژی شود و نباید در این پروتکل انجام گیرد. در صورتی که هدف بررسی علت بیماری یا شناسایی عامل عفونی باشد، باید از پروتکل‌های اختصاصی نمونه‌برداری تشخیصی استفاده گردد.

## اصول انتخاب تصادفی و طرح نمونه‌برداری

نمونه‌برداری باید به‌صورت تصادفی انجام گیرد تا همه پرندگان شانس برابر برای انتخاب داشته باشند. انتخاب پرندگان از یک گوشه سالن یا از قفس‌های نزدیک و در دسترس موجب سوگیری نتایج و کاهش اعتبار سرولوژی می‌شود. استفاده از یک پروتکل ثابت در دفعات مختلف نمونه‌برداری، امکان مقایسه دقیق نتایج در طول زمان را فراهم می‌کند.

- در سالن‌های بستر: سالن را ذهنی به خطوط یا قطره‌ای تقسیم نمایید. به‌عنوان مثال، اگر سالن ۶۰ متر طول داشته باشد و ۲۴ نمونه مورد نیاز باشد، در هر خط ۱۲ پرنده در فواصل پنج‌متری انتخاب می‌شوند تا پوشش یکنواخت کل سالن تضمین شود.
- در سالن‌های قفس: قفس‌ها شماره‌گذاری می‌شوند و بر اساس تعداد نمونه مورد نیاز، قفس‌ها به صورت تصادفی انتخاب می‌شوند. از هر قفس انتخاب‌شده، یک یا چند پرنده خون‌گیری می‌شود.

## تعداد نمونه‌ها و معیارهای انتخاب

در این روش، نمونه‌برداری فقط از پرندگان سالم انجام می‌شود؛ زیرا هدف اصلی، پایش ایمنی و ارزیابی واکسیناسیون گله است. پرندگان بیمار یا ضعیف نباید در این پروتکل وارد شوند، چرا که نتایج سرولوژی را مخدوش می‌کنند.

برای به‌دست‌آوردن برآورد آماری معتبر از سطح ایمنی گله:

- حداقل ۱۸ نمونه خون از هر گله برای انجام آزمون‌های سرولوژی لازم است.
- برای افزایش دقت و کاهش خطای آماری، معمولاً ۲۳ تا ۲۴ نمونه توصیه می‌شود.
- در عمل بهتر است کمی بیشتر از این تعداد نمونه‌برداری شود تا آزمایشگاه در صورت بروز مشکل (مانند همولیز یا لخته‌شدن نامناسب)، امکان انتخاب بهترین نمونه‌ها را داشته باشد.

در تحلیل نتایج، علاوه بر گزارش میانگین هندسی تیترا (GMT)، ارائه درصد ضریب تغییرات (CV) نیز ضروری است؛ زیرا این شاخص نشان می‌دهد که ایمنی گله یکنواخت بوده یا بین پرندگان اختلاف زیادی وجود دارد.

## روش اجرایی خون‌گیری از ورید بال

محل مناسب خون‌گیری در بخش میانی ورید بازویی بین مفصل آرنج و شانه قرار دارد. در صورت لزوم پره‌های محل کنار زده شده و پوست با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی می‌شود.

- سوزن با زاویه کنترل شده و سطح مورب رو به بالا وارد ورید می‌شود. کنترل زاویه و عمق مانع از آسیب بافتی و تشکیل هماتوم است.
- کشیدن پیستون سرنگ باید به آرامی انجام شود، زیرا وریدهای پرندگان به سادگی دچار کلاپس می‌شوند.
- پس از پایان خون‌گیری، فشار ملایم چند ثانیه‌ای روی محل ورود سوزن برای جلوگیری از خونریزی کافی است. در صورت بروز هماتوم، خون‌گیری باید از بال دیگر انجام شود.

## روش برش سطحی و محدودیت‌ها

در این روش، برش سطحی روی ورید بال ایجاد و خون به صورت مستقیم جمع‌آوری می‌شود. هرچند این روش ساده‌تر است، اما احتمال آلودگی باکتریایی و قارچی بالایی دارد و تنها در شرایط اضطراری یا غربالگری محدود توصیه می‌شود. برای سرولوژی روتین، ونوپانکچر روش استاندارد و ارجح است.

## ابزار، حجم‌ها و نکات فنی

- سوزن با طول ۰.۵ تا یک اینچ و گیج ۲۰ تا ۲۳ مناسب است. استفاده از سوزن بسیار ظریف می‌تواند همولیز را افزایش دهد.
- برای بیشتر پرندگان سرنگ یکبار مصرف ۲.۵ سی‌سی و برای جوجه‌های یک‌روزه سرنگ یک سی‌سی توصیه می‌شود.
- به صورت معمول، حداقل یک سی‌سی خون کامل برای به‌دست آوردن ۰.۵ سی‌سی سرم نیاز است. برخی کیت‌های ELISA به ۱.۵ تا ۲ سی‌سی و برخی دیگر به ۲ تا ۳ سی‌سی خون کامل نیاز دارند.
- قبل از انتقال خون از سرنگ به لوله، باید سوزن جدا شود تا فشار خروجی کاهش یافته و از همولیز جلوگیری شود. خون باید به آرامی روی دیواره داخلی لوله تخلیه شود و از ایجاد کف پرهیز گردد.
- برای هر پرندۀ یک سرنگ اختصاص داده شود و پس از استفاده بلافاصله دور انداخته شود.
- لوله‌های شیشه‌ای یا پلاستیکی استریل با درپوش ضد نشت به‌کار روند. برچسب‌گذاری شامل اطلاعات گله یا شرکت، نام گله، سن، نوع پرندۀ و سایر جزئیات ضروری باشد.

## تشکیل لخته، جداسازی سرم و آماده‌سازی

- خون کامل پس از جمع‌آوری در دمای اتاق و در حالت افقی یا مایل به‌مدت ۱ تا ۲ ساعت باقی می‌ماند تا لخته تشکیل شود. نگهداری طولانی‌تر در یخچال می‌تواند جداسازی بهتر سرم را تسهیل کند.
- پس از لخته‌شدن کامل، سرم جدا و در ویال استریل و مجزا منتقل می‌شود.

- در صورت جمع‌آوری خون در سرنگ، پیستون حدود یک سانتی‌متر عقب کشیده و سرنگ به صورت عمودی قرار داده شود تا لخته‌سازی تسهیل شود؛ سپس سرم جدا شود.

## نگهداری و انتقال

- برای نگهداری کوتاه مدت (کمتر از ۴۸ ساعت)، نمونه‌ها در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شوند. برای بلند مدت، سرم در ویال پلاستیکی در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود. نمونه باید به صورت پایدار منجمد بماند و از تکرار چرخه‌های انجماد و ذوب که باعث تخریب سرم می‌شود، پرهیز گردد. تابش مستقیم خورشید به نمونه و ظروف ممنوع است.
- ارسال خون کامل باید در همان روز انجام شود. ارسال خون کامل لخته‌شده توصیه نمی‌شود، زیرا سرد شدن یا گرم شدن بیش از حد موجب همولیز می‌شود و نتایج آزمون را غیرقابل اعتماد می‌کند.

## کنترل کیفیت میدانی و مستندسازی

- برچسب‌گذاری باید بلافاصله پس از خون‌گیری انجام گیرد و با اطلاعات ثبت‌شده در فرم میدانی و زنجیره انتقال مطابقت داشته باشد.
- اطلاعات ضروری شامل شناسه فارم و گله، سن و نوع پرنده، تاریخ و ساعت خون‌گیری، روش وریدی مورد استفاده و نام متخصص نمونه برداری است.
- بخشی از نمونه‌ها باید به صورت تکراری گرفته شوند تا دقت فرآیند نمونه‌برداری بررسی شود.
- هرگونه رخداد غیرمعمول در حین خون‌گیری یا حمل‌ونقل باید در فرم ثبت گردد.

## خطاهای رایج و راهکارهای اصلاح

- انتخاب غیرتصادفی پرندگان یا تمرکز بر یک ناحیه موجب سوگیری نتایج می‌شود. راهکار، طراحی خطوط فرضی یا استفاده از نمونه‌برداری تصادفی بلوکی است.
- استفاده از سوزن بسیار ظریف، فشار زیاد هنگام تخلیه خون، ایجاد کف و تکان‌های شدید منجر به همولیز می‌شود. راهکار، جداسازی سوزن و تخلیه آرام خون روی دیواره لوله است.

- ارسال دیر هنگام، نگهداری در دمای محیط یا در معرض آفتاب و همچنین فریز و ذوب مکرر نمونه ها کیفیت سرم را کاهش می دهد. راهکار، رعایت زنجیره سرد، ارسال سریع و استفاده از انجماد پایدار برای نگهداری بلندمدت است.

## آزمون های سرولوژی نیوکاسل

این بخش به تشریح اصول علمی و اجرایی آزمون های سرولوژی برای پایش ایمنی گله در برابر ویروس نیوکاسل اختصاص دارد. دو آزمون رایج در این زمینه عبارتند از:

- آزمون HI (مانعت از هم‌آگلوتیناسیون): یکی از ابزارهای اصلی و استاندارد برای شناسایی آنتی بادی علیه ویروس نیوکاسل.
- آزمون ELISA: به دلیل حساسیت و ویژگی مناسب، سهولت اجرا و هزینه کمتر به صورت گسترده مورد استفاده قرار می گیرد.

انتخاب آزمون باید بر اساس هدف پایش، شرایط گله و دستورالعمل کیت آزمایشگاهی انجام شود. نتایج معتبر تنها زمانی به دست می آید که در کنار سوابق واکسیناسیون، سن گله و وضعیت بالینی پرندگان تفسیر گردد. گزارش نتایج باید شامل میانگین هندسی تیت (GMT) و ضریب تغییرات (CV) باشد؛ زیرا این دو شاخص، سطح و یکنواختی ایمنی گله را مشخص می کنند.

## آزمون HI برای نیوکاسل

ویروس نیوکاسل توانایی چسباندن گلبول های قرمز مرغ به یکدیگر را دارد (هماگلوتیناسیون). اگر در سرم پرنده، آنتی بادی اختصاصی علیه ویروس وجود داشته باشد، این پدیده مهار می شود. آزمون HI بر همین اصل استوار است: سرم هر پرنده به صورت دوپل رقیق می شود؛ سپس مقدار استاندارد از آنتی ژن ویروسی (چهار واحد هم‌آگلوتیناسیون) به آن افزوده می گردد و پس از آن سوسپانسیون یکنواخت گلبول قرمز مرغ اضافه می شود. اگر در آن رقت خاص هنوز مهار رخ دهد، گلبول ها به صورت دکمه فشرده ته چاهک می نشینند؛ اگر مهار در کار نباشد، گلبول ها به صورت صفحه گسترده پخش می شوند. تیت HI معکوس بالاترین رقت سرمی است که هنوز مهار کامل را نشان می دهد و نماینده سطح آنتی بادی خنثی کننده در گله است.

## طراحی نمونه‌برداری برای تست‌های سرولوژی گله

نمونه‌برداری باید فقط از طیور سالم انجام شود، چون هدف این فصل پایش ایمنی و ارزیابی واکسیناسیون است. انتخاب پرندگان باید تصادفی و یکنواخت در سراسر سالن بستر یا ردیف‌های قفس انجام گیرد تا سوگیری مکانی رخ ندهد. برای برآورد آماری معتبر، حداقل ۱۸ نمونه در هر گله لازم است؛ برای افزایش دقت، معمولاً ۲۳ تا ۲۴ نمونه پیشنهاد می‌شود و در عمل می‌توان کمی بیش از این تعداد خون‌گیری کرد تا در صورت حذف نمونه‌های نامناسب (همولیز)، تحلیل خدشه‌دار نشود. زمان نمونه‌برداری باید با هدف پایش تنظیم شود: دو تا سه هفته پس از آخرین دوز واکسن زنده، و سه تا چهار هفته پس از واکسن کشته بهترین زمان ارزیابی است. در برنامه‌های چند مرحله‌ای، تهیه نمونه پایه پیش از واکسیناسیون برای مقایسه بعدی توصیه می‌شود.

## الزامات پیش‌تحلیلی و کنترل کیفیت

- جمع‌آوری و آماده‌سازی سرم: خون‌گیری از ورید بال (بازویی) انجام شود. انتقال خون به لوله باید ملایم و بدون ایجاد کف باشد تا همولیز رخ ندهد. خون کامل یک تا دو ساعت در دمای اتاق برای لخته‌شدن باقی بماند؛ سپس سرم جدا شود. سرم در ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد تا ۴۸ ساعت پایدار است و برای مدت طولانی‌تر باید در منفی ۲۰ درجه فریز شود. برای حفظ کیفیت، نمونه یک‌بار منجمد و در همان حالت نگهداری شود؛ تکرار انجماد و ذوب، ممنوع.
- کنترل‌ها: در هر سری آزمون باید از سرم مثبت تأیید شده و سرم منفی مشخص استفاده شود. کنترل آنتی‌ژن بدون سرم (برای بررسی قدرت هم‌آگلوتیناسیون) و کنترل گلبول قرمز بدون آنتی‌ژن (برای سنجش کیفیت سوسپانسیون RBC) ضروری است. پیش از شروع هر سری، مجدداً تیتراژ انجام می‌شود تا مقدار دقیق چهار واحد هم‌آگلوتیناسیون تعیین گردد.

## تجهیزات و مواد مورد نیاز

- پلیت میکروتیتر-۷ شکل
- میکروپیت کالیبره
- محلول بافر فسفات سالین (PBS)
- سوسپانسیون گلبول قرمز مرغ با غلظت ۰.۵ تا ۱ درصد (تازه و همان روز تهیه‌شده)

## تهیه سوسپانسیون گلبول قرمز

خون تازه مرغ در لوله حاوی آل‌سور یا EDTA جمع‌آوری می‌شود. سلول‌ها سه بار با PBS شست‌وشو داده می‌شوند تا پلاسما و پروتئین‌های مزاحم حذف گردد. سپس سوسپانسیون ۰.۵ تا ۱ درصد در PBS تهیه و کاملاً یکنواخت می‌شود؛ وجود لخته یا کهنگی، خوانش را مخدوش می‌کند. این سوسپانسیون در دمای اتاق نگهداری و در همان روز مصرف شود.

## آنتی‌ژن HI نیوکاسل

از آنتی‌ژن استاندارد لاین‌های واکسنی متداول (لا سوتا یا بی‌وان) استفاده می‌شود مگر آن‌که آزمایشگاه دستور دیگری بدهد. پیش از آزمون، قدرت هم‌اگلوتیناسیون آنتی‌ژن با رقت‌های پیاپی و افزودن RBC تعیین می‌شود تا مقدار دقیق ۴ واحد برای کار در HI به دست آید.

## خطاهای رایج و راهکارهای اصلاح

- همولیز سرم، نتیجه را بی‌اعتبار می‌کند؛ خون‌گیری باید با سوزن مناسب و تخلیه آرام روی دیواره لوله انجام شود.
- نابرابری حجم‌ها و رقت‌ها، خطای سیستماتیک ایجاد می‌کند؛ حجم در همه چاهک‌ها یکسان و میکروپیپت‌ها کالیبره باشند.
- گلوبول سفید کهنه یا لخته‌دار، خوانش را مخدوش می‌کند؛ سوسپانسیون تازه، یکنواخت و همان روز مصرف شود.
- تعیین مجدد تیتراژ آنتی‌ژن در هر سری آزمون ضروری است؛ زیرا تغییر در قدرت هم‌اگلوتیناسیون، دقت نتایج را مختل می‌کند.
- خوانش خارج از بازه استاندارد (خیلی زود یا دیر) مرز دکمه‌ها را مبهم می‌کند؛ بازه ۳۰-۴۰ دقیقه دقیق رعایت شود.

## ملاحظات زمانی در نمونه‌برداری بیماری‌های ویروسی طیور

- ارتباط با سن گله: پاسخ ایمنی و سطح آنتی‌بادی در پرندگان به صورت مستقیم با سن آن‌ها مرتبط است. نمونه‌برداری زودتر یا دیرتر از زمان بهینه می‌تواند باعث نتایج منفی یا مثبت کاذب شود.
- ارتباط با تقویم واکسیناسیون:

- در بیماری برونشیت عفونی، به علت تنوع سویه‌ها و کوتاه بودن دوام ایمنی، نمونه‌گیری باید دقیقاً بر اساس برنامه واکسیناسیون اخیر تنظیم شود.
  - در بیماری گامبورو، وجود آنتی‌بادی مادری و زمان افت آن اهمیت حیاتی دارد؛ نمونه‌گیری زودهنگام می‌تواند منفی کاذب و نمونه‌گیری دیرهنگام مثبت کاذب ایجاد کند.
  - در بیماری آنفلوآنزای پرندگان، نمونه‌برداری باید در بازه زمانی مشخص پس از واکسیناسیون یا بروز علائم مشکوک انجام گیرد؛ بی‌توجهی به این بازه‌ها می‌تواند نتیجه را غیرقابل اعتماد کند.
- طراحی زمان نمونه‌گیری باید هم‌زمان با مرور تقویم واکسیناسیون، تاریخ آخرین واکسن، سویه مورد استفاده و سن گله انجام شود. بدون این اطلاعات، حتی بهترین نمونه‌برداری و آزمون هم فاقد ارزش تحلیلی خواهد بود.

### برونشیت عفونی (IB – Infectious Bronchitis)

- سن گله: نمونه‌گیری باید در سنین کلیدی پایش (معمولاً ۲ تا ۳ هفتگی و سپس پس از هر واکسیناسیون تقویتی) انجام شود.
  - تقویم واکسیناسیون: زمان نمونه‌گیری سرولوژی حدود ۲ تا ۳ هفته پس از آخرین دوز واکسن زنده یا کشته توصیه می‌شود. نمونه‌گیری زودتر از این بازه می‌تواند تیتراژ پایین (منفی کاذب) نشان دهد، در حالی که ایمنی هنوز در حال شکل‌گیری است.
- نکته:** در صورت استفاده از واکسن‌های ترکیبی یا چندسویه، نتایج باید در ارتباط با سویه واکسن تفسیر شود.

### گامبورو (IBD – Infectious Bursal Disease)

- سن گله: زمان مناسب نمونه‌گیری ارتباط مستقیم با سطح آنتی‌بادی مادری دارد. اگر نمونه‌گیری خیلی زود و در حالی که آنتی‌بادی مادری هنوز بالا است انجام شود، نتایج می‌تواند مثبت کاذب باشد. در مقابل، اگر نمونه‌گیری خیلی دیر و پس از افت تیتراژ یا پس از تماس گله با ویروس محیطی انجام گیرد، احتمال منفی کاذب وجود دارد.
- تقویم واکسیناسیون: نمونه‌گیری برای سرولوژی باید حدود ۱۰ تا ۱۴ روز پس از واکسن زنده و حدود ۳ تا ۴ هفته پس از واکسن کشته انجام شود.

**نکته:** برای پایش دقیق، بهتر است یک نمونه پایه (Pre-vaccination) پیش از واکسن گرفته شود و سپس نمونه مقایسه‌ای بعد از واکسن. این مقایسه امکان تفسیر علمی ایجاد می‌کند.

### آنفلوآنزای پرندگان (Avian Influenza – AI)

- سن گله: در گله‌های گوشتی معمولاً نمونه‌گیری در سنین ۳ تا ۵ هفتگی (پس از واکسن و نزدیک کشتار) انجام می‌شود؛ در گله‌های مادر و تخم‌گذار بر اساس مراحل برنامه واکسیناسیون و پایش دوره‌ای طراحی می‌شود.
- تقویم واکسیناسیون: بهترین زمان نمونه‌گیری حدود ۳ تا ۴ هفته پس از تزریق واکسن کشته است. برای واکسن‌های یادآور، هر نوبت پایش باید با توجه به فاصله تزریق قبلی انتخاب شود.

**نکته:** در شرایط بروز علائم مشکوک، زمان نمونه‌گیری می‌تواند متفاوت باشد و علاوه بر سرولوژی، نمونه‌های سواب نازوفارنژیال یا نای نیز هم‌زمان برای تأیید به آزمایشگاه ارسال شوند.



# بخش دوازدهم

برگه ها و بازبینی ها (چک لیست ها)



## شرح

برگه‌ها و جداول طراحی شده در این بخش به منظور مستندسازی دقیق و نظام‌مند فرآیند نمونه‌برداری و کنترل کیفیت تدوین شده‌اند. این ابزارها به کاربران کمک می‌کنند تا کلیه مراحل، از تعریف لات و طراحی طرح نمونه‌برداری تا برداشت میدانی، حمل، نگهداری، انتقال به آزمایشگاه و گزارش‌دهی نهایی، به صورت یکپارچه و قابل پیگیری ثبت و مدیریت شوند. کاربرد این برگه‌ها چند دستاورد اساسی دارد.

- کاهش خطا و سوگیری در نمونه‌برداری و ثبت اطلاعات از طریق ساختارمند کردن مراحل.
  - ایجاد قابلیت ردیابی برای هر نمونه از زمان برداشت تا تحویل به آزمایشگاه و در نتیجه امکان بررسی دقیق در صورت بروز هرگونه اختلاف یا خطا.
  - افزایش اعتبار نتایج آزمایشگاهی از طریق ثبت زنجیره انتقال، شرایط نگهداری و کنترل‌های QA/QC
  - تسهیل کار عملی در واحدهای پرورش (دام و طیور) و کارخانجات خوراک و پروژه‌ها به گونه‌ای که دامداران، کارشناسان و پژوهشگران بتوانند بدون ابهام و سردرگمی، نمونه‌برداری را مطابق اصول استاندارد اجرا و ثبت نمایند.
- به بیان دیگر، این برگه‌ها نقش پل ارتباطی میان کار میدانی و تحلیل آزمایشگاهی را ایفا می‌کنند و تضمین می‌نمایند که داده‌های به‌دست آمده معتبر، شفاف و مورد پذیرش علمی باشند. استفاده مداوم و منظم از این ابزارها، کیفیت و قابلیت اعتماد نتایج پروژه‌های تحقیقاتی و پایشی در حوزه دام و طیور را به شکل چشمگیری ارتقا می‌دهد. شما می‌توانید با توجه به نوع مدیریت و نگرش خود، این برگه‌ها را ارتقا و یا ساده سازی نمایید.

## برگهٔ برچسب نمونه

| عنوان                                         | توضیحات<br>(تکمیل توسط نمونه‌بردار) |
|-----------------------------------------------|-------------------------------------|
| کد نمونه                                      |                                     |
| ماتریس                                        |                                     |
| کد دسته / بچ                                  |                                     |
| تاریخ و ساعت برداشت<br>(YYYY-MM-DD HH:MM)     |                                     |
| محل برداشت (در صورت امکان GPS)                |                                     |
| نمونه‌بردار                                   |                                     |
| تعداد «نمونه‌های نقطه‌ای» × جرم هر کدام (گرم) |                                     |
| روش کاهش حجم (در صورت اجرا)                   |                                     |
| هدف آزمون                                     |                                     |
| شرایط نگهداری / حمل                           |                                     |

## برگه میدانی عمومی نمونه‌برداری

| عنوان                                                                                                | توضیحات<br>(تکمیل توسط نمونه‌بردار) |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| عنوان پروژه                                                                                          |                                     |
| کد پروژه                                                                                             |                                     |
| تعریف دسته (Lot)                                                                                     |                                     |
| روش انتخاب نقاط یا زمان‌ها (تصادفی / نظام‌مند / سایر)                                                |                                     |
| تعداد نمونه‌های نقطه‌ای و الگوی پراکندگی                                                             |                                     |
| ابزار مورد استفاده (بمبو، بیلچه، مته، سرنگ و ...)                                                    |                                     |
| وضعیت همگن‌سازی (انجام‌شده / انجام‌نشده) –<br>روش به‌کاررفته (چهارقسمت کردن، تقسیم‌کننده ریفل و ...) |                                     |
| اقدامات پیشگیرانه برای جلوگیری از آلودگی<br>(تمیزکردن ابزار، تعویض دستکش، نمونه شاهد و ...)          |                                     |
| شرایط محیطی در زمان نمونه‌برداری<br>(دما، رطوبت، رخدادهای غیرمعمول)                                  |                                     |
| توضیحات تکمیلی                                                                                       |                                     |

### برگه زنجیره انتقال نمونه‌ها (Chain-of-Custody)

| عنوان                                         | توضیحات<br>(تکمیل توسط مسئول نمونه‌برداری یا<br>آزمایشگاه) |
|-----------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| کد نمونه                                      |                                                            |
| نوع ماتریس (خوراک، شیر، خون، آب، مدفوع و ...) |                                                            |
| کد دسته (Lot)                                 |                                                            |
| تاریخ و ساعت برداشت                           |                                                            |
| تعداد و نوع ظروف نمونه                        |                                                            |
| شرایط نگهداری (دما، افزودن نگهدارنده و ...)   |                                                            |
| تحويل دهنده (نام / امضا / زمان تحويل)         |                                                            |
| تحويل گیرنده (نام / امضا / زمان دریافت)       |                                                            |
| دمای ثبت شده هنگام رسیدن به آزمایشگاه         |                                                            |
| وضعیت بسته‌بندی و پلمب (سالم / مخدوش)         |                                                            |
| توضیحات تکمیلی                                |                                                            |

### بازبینی پیش از نمونه‌برداری (Pre-Trip Checklist)

این چک لیست فهرستی از اقدامات و تجهیزات ضروری است که پیش از اعزام برای نمونه‌برداری مرور می‌شود تا از کامل بودن وسایل، فرم‌ها یا برگه‌ها، ظروف، زنجیره سرد و هماهنگی با آزمایشگاه اطمینان حاصل گردد.

| مورد بررسی                                                                         | بله / خیر | توضیحات تکمیلی |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----------|----------------|
| برنامه نمونه‌برداری و تعریف دسته‌ها (لات‌ها) بازبینی شد.                           |           |                |
| برگه‌ها و برچسب‌های از پیش چاپ‌شده آماده است.                                      |           |                |
| تجهیزات نمونه‌برداری (بمبو، مته، بیلچه، سطل، کیسه، تقسیم‌کننده) آماده است.         |           |                |
| ظروف نمونه (تمیز / استریل) در دسترس است.                                           |           |                |
| مواد نگهدارنده یا محیط‌های لازم (در صورت نیاز) آماده است.                          |           |                |
| بخدان، یخ، دماسنج یا دیتالاگر آماده است.                                           |           |                |
| تجهیزات حفاظت فردی (دستکش، ماسک، عینک و ...) آماده است.                            |           |                |
| مواد ضدعفونی و دستمال تمیز در دسترس است.                                           |           |                |
| برنامه QA/QC (نمونه تکراری میدانی، نمونه شاهد، مواد مرجع گواهی‌شده) تعیین شده است. |           |                |
| هماهنگی با آزمایشگاه در مورد حجم، نوع ظرف و زمان تحویل انجام شد.                   |           |                |

QA/QC (کنترل و تضمین کیفیت): مجموعه اقداماتی است که دقت و صحت فرآیند نمونه‌برداری و نتایج آزمایشگاهی را با استفاده از نمونه‌های تکراری، شاهد و مواد مرجع گواهی شده پایش و تضمین می‌کند.

## بازبینی اجرای میدانی نمونه برداری

| مورد                                                                                       | بله / خیر | توضیحات |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|---------|
| مرزبندی دسته و ثبت کد لات به صورت کامل انجام شد.                                           |           |         |
| انتخاب نقاط یا زمان های برداشت طبق طرح تعیین شده و بدون سوگیری صورت گرفت.                  |           |         |
| همه نمونه های نقطه ای با جرم یکسان برداشت شدند.                                            |           |         |
| ابزار نمونه برداری میان دسته ها شسته و خشک شد و دستکش ها تعویض شدند.                       |           |         |
| همگن سازی نمونه ها پیش از کاهش حجم به صورت کامل انجام شد.                                  |           |         |
| کاهش حجم با روش استاندارد (چهار قسمت کردن یا تقسیم کننده ریفل) روی سطح تمیز و خشک اجرا شد. |           |         |
| برچسب گذاری ظرف ها بلافاصله پس از برداشت انجام شد.                                         |           |         |
| تمام زمان ها، دماها و رخداد های غیر معمول در فرم میدانی ثبت شدند.                          |           |         |
| نمونه ها بلافاصله در یخدان حاوی یخ قرار گرفتند و دمای حمل کنترل شد.                        |           |         |

### بازبینی بسته‌بندی و ارسال نمونه‌ها

| مورد                                                                           | بله/خیر | توضیحات یا مقدار |
|--------------------------------------------------------------------------------|---------|------------------|
| کیسه‌ها هواگیری شدند یا در ظروف محکم بسته شد.                                  |         |                  |
| نمونه‌ها در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (در صورت نیاز).           |         |                  |
| فریز شدن نمونه فقط مطابق دستور آزمایشگاه و برای نگهداری بلندمدت مجاز انجام شد. |         |                  |
| تعداد ظروف و کدهای ثبت شده با فرم زنجیره انتقال تطابق دارد.                    |         |                  |
| زمان خروج، مسیر حمل و زمان رسیدن ثبت شد.                                       |         |                  |
| دمای رسیدن به آزمایشگاه ثبت و تحویل رسمی انجام شد.                             |         |                  |

### الگوی ماتریس محور/ خوراک و غلات

| مورد                                                    | توضیحات یا مقدار |
|---------------------------------------------------------|------------------|
| نوع توده (دپو / کیسه / بارگیری یا تخلیه)                |                  |
| عمق یا ارتفاع دپو (متر)                                 |                  |
| تعداد نمونه‌های نقطه‌ای و الگوی پراکندگی                |                  |
| جرم هر نمونه نقطه‌ای (گرم)                              |                  |
| جرم نمونه مرکب پیش از کاهش حجم (گرم)                    |                  |
| روش کاهش حجم (تقسیم‌کننده کانالی / روش چهارقسمتی / ...) |                  |
| جرم نهایی ارسال به آزمایشگاه (گرم)                      |                  |
| یادداشت درباره یکنواختی یا خطر میکروتوکسین              |                  |

## الگوی ماتریس محور / سیلاژ

| مورد                                                       | توضیحات یا مقدار |
|------------------------------------------------------------|------------------|
| نوع سیلو (خندقی / روزمینی / بسته‌بندی / سوسپسی)            |                  |
| وضعیت سطح برش (پایدار / ناپایدار)                          |                  |
| الگوی برداشت (مثلاً W در سطح و برداشت از ارتفاع‌های مختلف) |                  |
| تعداد نمونه‌های نقطه‌ای × جرم هر نمونه (گرم)               |                  |
| آیا هواگیری کیسه و بستن محکم انجام شده است؟                |                  |
| فاصله زمانی تا ارسال نمونه به آزمایشگاه (ساعت)             |                  |
| دمای نگهداری (درجه سانتی‌گراد)                             |                  |
| یادداشت درباره وضعیت تخمیر، بو، یا گرم‌شدن موضعی           |                  |

## الگوی ماتریس محور / خوراک کامل مخلوط (TMR)

| مورد                                                                     | توضیحات یا مقدار |
|--------------------------------------------------------------------------|------------------|
| محل برداشت (چین توزیع / خروجی میکسر / آخر)                               |                  |
| پوشش طول آخر (ابتدا / میانه / انتها)                                     |                  |
| آیا برنامه سنجش یکنواختی در سه زمان (ابتدا، میانه و پایان مصرف) اجرا شد؟ |                  |
| تنظیمات میکسر و ترتیب افزودن مواد                                        |                  |
| تعداد نمونه‌های نقطه‌ای × جرم هر نمونه (گرم)                             |                  |
| روش کاهش حجم (چهاربخشی یا تقسیم‌کننده مکانیکی)                           |                  |
| جرم نهایی ارسال به آزمایشگاه (گرم)                                       |                  |
| دمای نگهداری در طول انتقال (درجه سانتی‌گراد)                             |                  |

## الگوی ماتریس محور / آب و پساب

| مورد                                         | توضیحات یا مقدار |
|----------------------------------------------|------------------|
| منبع (چاه / مخزن / انتهای خط / پساب)         |                  |
| آیا فلاش ۵ دقیقه‌ای انجام شد؟                |                  |
| آیا دهانه خروجی به صورت موضعی ضد عفونی شد؟   |                  |
| نوع ظرف (تمیز / استریل)                      |                  |
| حجم نمونه برای آزمون‌های شیمیایی (لیتر)      |                  |
| حجم نمونه برای آزمون‌های میکروبی (میلی لیتر) |                  |
| حجم نمونه پساب برای جار تست (لیتر)           |                  |
| کلر باقی مانده (mg/L)                        |                  |
| دمای نمونه هنگام برداشت (درجه سانتی گراد)    |                  |
| pH نمونه                                     |                  |
| آیا ارسال در همان روز به آزمایشگاه انجام شد؟ |                  |

## برگه نمونه برداری شیر و تشخیص ورم پستان

| مورد                                                      | توضیحات یا مقدار |
|-----------------------------------------------------------|------------------|
| نوع نمونه CMT (تک کارتیبه / چهار کارتیبه / بالک تانک)     |                  |
| در صورت بالک تانک (مخزن): مدت همزنی پیش از برداشت (دقیقه) |                  |
| حجم هر ظرف (میلی لیتر)                                    |                  |
| تعداد ظرف‌ها                                              |                  |
| آیا نوک سرپستان با الکل ۷۰ درصد ضد عفونی و سپس خشک شد؟    |                  |
| دمای نگهداری تا زمان ارسال (درجه سانتی گراد)              |                  |
| فاصله زمانی تا انجام کشت (ساعت)                           |                  |
| نتیجه آزمون CMT برای هر کارتیبه                           |                  |

### برگه نمونه‌برداری خون (نسخوارکنندگان)

| مورد                                                    | توضیحات یا مقدار |
|---------------------------------------------------------|------------------|
| محل خون‌گیری (ژوگولار / دمی / پستانی / گوش)             |                  |
| نوع لوله (قرمز / زرد / بنفش / سبز)                      |                  |
| حجم خون برداشت‌شده (میلی‌لیتر)                          |                  |
| حداکثر زمان تا جداسازی سرم (ساعت)                       |                  |
| شرایط نگهداری کوتاه‌مدت (۴ درجه سانتی‌گراد تا ... ساعت) |                  |
| شرایط نگهداری (بلندمدت منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد)         |                  |
| متابولیک پروفایل: زمان خون‌گیری نسبت به خوراک           |                  |

### برگه نمونه‌برداری مدفوع

| مورد                                                        | توضیحات یا مقدار |
|-------------------------------------------------------------|------------------|
| روش برداشت (رکتال / از مدفوع تازه)                          |                  |
| حجم یا جرم نمونه ( $\leq 15$ گرم)                           |                  |
| استفاده از سوآپ و محیط استریل (بله / خیر)                   |                  |
| نمونه مخلوط تهیه شد؟ در صورت مثبت: وزن مساوی هر نمونه (گرم) |                  |
| دمای حمل (درجه سانتی‌گراد)                                  |                  |
| فریز شد؟ (فقط در صورت دستور آزمایشگاه)                      |                  |
| توضیحات تکمیلی                                              |                  |

### نمونه‌برداری بافت گوش برای پایش BVD

| مورد                                                    | توضیحات |
|---------------------------------------------------------|---------|
| ضدعفونی پانچ و سپس شست‌وشو با آب تمیز انجام شد؟         |         |
| محل برداشت بی‌عروق انتخاب شد؟                           |         |
| انتقال بافت به ویال برچسب‌خورده                         |         |
| نگهداری در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد (حداکثر ۷۲ ساعت) |         |
| ارسال با یخ انجام شد؟                                   |         |
| تطابق شماره دام و ویال کنترل شد؟                        |         |
| یادداشت‌های تکمیلی                                      |         |

### نمونه برداری خون طیور برای سرولوژی

| مقدار | مورد                                                                                     |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------|
|       | طرح سالن (تعداد ترنست ها و الگوی چیدمان)                                                 |
|       | زمان اجرا (صبح / بعدازظهر)                                                               |
|       | اندازه نمونه (تعداد پرندگان انتخاب شده)                                                  |
|       | روش خون گیری (مثلاً ورید بال)                                                            |
|       | حجم خون هر پرنده (میلی لیتر)                                                             |
|       | مدت لخته سازی در دمای اتاق (ساعت)                                                        |
|       | جداسازی سرم انجام شد؟                                                                    |
|       | شرایط نگهداری (۲ تا ۸ درجه سانتی گراد تا ۴۸ ساعت / منفی ۲۰ درجه سانتی گراد برای بلندمدت) |
|       | درجه همولیز (۰ = بدون، ۱ = خفیف، ۲ = شدید)                                               |
|       | رخدادهای غیر معمول                                                                       |

### نمونه برداری غیرتهاجمی در طیور

| مقدار | فیلد                                                   |
|-------|--------------------------------------------------------|
|       | نوع ماتریس (پر / ترشحات غده پرین / پوسته تخم)          |
|       | روش شست و شوی پر (آب دی یونیزه / طبق پروتکل آزمایشگاه) |
|       | شرایط نگهداری (خشک و تاریک / دمای فریزر)               |
|       | توضیحات تکمیلی                                         |

### فرم ثبت کنترل کیفیت (QA/QC) در نمونه‌برداری

| نوع کنترل                   | کد نمونه | شرح / جزئیات                                                              | نتیجه آزمون | پذیرش / رد | اقدام اصلاحی |
|-----------------------------|----------|---------------------------------------------------------------------------|-------------|------------|--------------|
| نمونه تکراری میدانی         |          | مقایسه نمونه اصلی (کد ....) با نمونه تکراری (کد ....)                     |             |            |              |
| نمونه شاهد میدانی           |          | ظرف یا محیط استریل باز شده در محل نمونه‌برداری برای کنترل آلودگی محیط     |             |            |              |
| نمونه شاهد حمل              |          | ظرف یا محیط استریل حمل شده همراه نمونه‌ها برای کنترل آلودگی در طول انتقال |             |            |              |
| نمونه شاهد شست‌وشوی تجهیزات |          | نمونه حاصل از شست‌وشوی ابزار و غیره برای بررسی باقی‌مانده آلودگی          |             |            |              |
| نمونه مرجع گواهی شده (CRM)  |          | مقدار واقعی ماده هدف: ....<br>مقدار اندازه‌گیری شده: ....                 |             |            |              |

### فرم ثبت عدم انطباق و اقدام اصلاحی

| مورد                | مقدار / توضیحات                                                                  |
|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| شرح عدم انطباق      | (مثال: برچسب ناقص، دمای حمل خارج از محدوده، آلودگی ظاهری، کمبود حجم نمونه و ...) |
| تاریخ و ساعت رخداد  |                                                                                  |
| نمونه‌های تحت تأثیر | (کد نمونه یا دسته مربوط)                                                         |
| اقدام فوری          | (اقدامی که همان لحظه انجام شده است)                                              |
| ریشه‌یابی علت       | (تحلیل علت اصلی: انسانی، تجهیزاتی، محیطی و ...)                                  |
| اقدام اصلاحی        | (راهکار پیشنهادی و عملی برای پیشگیری از تکرار)                                   |
| مسئول اقدام         | (نام فرد یا واحد مسئول)                                                          |
| تاریخ تکمیل         | (زمان پایان و بستن اقدام اصلاحی)                                                 |

جدول ۲: ظروف و شرایط نمونه‌برداری آب و پساب

| نکات                                     | زمان تا حد اکثر آنالیز     | شرایط نگهداری و نگهدارنده                                                            | حجم نمونه مورد نیاز  | نوع ظرف مناسب                 | پارامتر مورد آزمون                   |
|------------------------------------------|----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-------------------------------|--------------------------------------|
| باید در محل نمونه‌برداری اندازه‌گیری شود | بلافاصله (حداکثر ۱۵ دقیقه) | بدون نگهدارنده، اندازه‌گیری در محل                                                   | ۱۰۰ میلی‌لیتر        | پلاستیکی یا شیشه‌ای تمیز      | pH، دما، هدایت الکتریکی              |
| از نور مستقیم خورشید اجتناب شود          | ۲۴ تا ۴۸ ساعت              | در دمای ۶ درجه سانتی‌گراد یا کمتر، دور از نور                                        | ۵۰۰ میلی‌لیتر        | پلی‌اتیلن یا شیشه‌ای          | رنگ، کدورت                           |
| افزودنی نیاز ندارد                       | ۱۴ روز                     | در دمای ۶ درجه سانتی‌گراد یا کمتر                                                    | ۱۰۰ تا ۵۰۰ میلی‌لیتر | پلی‌اتیلن                     | قلیا، اسیدیته، سختی                  |
| باید در محل سنجش شود                     | بلافاصله (حداکثر ۱۵ دقیقه) | بدون نگهدارنده                                                                       | ۱۰۰ میلی‌لیتر        | پلی‌اتیلن                     | کلر آزاد و کلر کل                    |
| از ظروف فلزی استفاده نشود                | ۶ ماه                      | افزودن اسید نیتریک تا رسیدن pH به کمتر از ۲، خنک در دمای ۶ درجه سانتی‌گراد یا کمتر   | ۲۵۰ میلی‌لیتر        | پلی‌اتیلن یا شیشه بوروسیلیکات | فلزات (مس، روی، آهن، سرب، کروم و...) |
| نمونه باید سریع حمل شود                  | ۲۸ روز                     | افزودن اسید سولفوریک تا رسیدن pH به کمتر از ۲، خنک در دمای ۶ درجه سانتی‌گراد یا کمتر | ۱۰۰ تا ۲۰۰ میلی‌لیتر | پلی‌اتیلن                     | نیترات، نیتریت                       |
| سریع سرد شود                             | ۲۸ روز                     | افزودن اسید سولفوریک تا رسیدن pH به کمتر از ۲، خنک در دمای ۶ درجه سانتی‌گراد یا کمتر | ۵۰۰ میلی‌لیتر        | پلی‌اتیلن                     | آمونیاک                              |

| پارامتر<br>مورد آزمون                 | نوع ظرف<br>مناسب                              | حجم<br>نمونه<br>مورد نیاز   | شرایط نگهداری و<br>نگهدارنده                                                                                    | حداکثر<br>زمان تا<br>آنالیز                               | نکات                                              |
|---------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| فسفات                                 | پلی اتیلن                                     | ۱۰۰<br>میلی لیتر            | افزودن اسید<br>سولفوریک تا رسیدن<br>pH به کمتر از ۲،<br>خنک در دمای ۶<br>درجه سانتی گراد یا<br>کمتر             | ۲۸ روز                                                    | از نور مستقیم<br>اجتناب شود                       |
| BOD-<br>نیاز<br>اکسیژنی<br>بیوشیمیایی | پلی اتیلن یا<br>شیشه‌ای                       | ۵۰۰ تا<br>۱۰۰۰<br>میلی لیتر | در دمای ۶ درجه<br>سانتی گراد یا کمتر                                                                            | ۴۸ ساعت                                                   | شاخصی از بار<br>آلودگی آلی و<br>فعالیت<br>میکروبی |
| COD-<br>نیاز<br>اکسیژنی<br>شیمیایی    | پلی اتیلن یا<br>شیشه‌ای                       | ۵۰۰ تا<br>۱۰۰۰<br>میلی لیتر | افزودن اسید<br>سولفوریک تا رسیدن<br>pH به کمتر از ۲،<br>خنک در دمای ۶<br>درجه سانتی گراد یا<br>کمتر             | ۲۸ روز                                                    | شاخصی از<br>کل مواد آلی<br>و معدنی<br>اکسیدشونده  |
| DO-<br>اکسیژن<br>محلول                | بطری<br>شیشه‌ای<br>ویژه BOD                   | ۳۰۰<br>میلی لیتر            | تثبیت فوری با روش<br>وینکلر یا الکتروود                                                                         | بلافاصله<br>(حداکثر ۳۰<br>دقیقه)                          | باید در محل<br>اندازه گیری<br>شود                 |
| کلنی‌های<br>میکروبی                   | شیشه<br>بوروسیلیکات<br>یا پلی اتیلن<br>استریل | ۱۰۰ تا<br>۲۵۰<br>میلی لیتر  | افزودن تیوسولفات<br>سدیم برای<br>خنثی سازی کلر،<br>خنک در دمای ۶<br>درجه سانتی گراد یا<br>کمتر                  | حداکثر ۸<br>ساعت                                          | ظروف باید<br>استریل و<br>پلمب باشند               |
| آفت کش‌ها<br>و ترکیبات<br>آلی فرار    | شیشه<br>بوروسیلیکات<br>تیره<br>(Amber)        | ۲۵۰ تا<br>۱۰۰۰<br>میلی لیتر | در دمای ۶ درجه<br>سانتی گراد یا کمتر،<br>افزودن اسید<br>آسکوربیک یا<br>تیوسولفات در صورت<br>وجود کلر باقی مانده | ۷ روز (تا<br>زمان<br>استخراج)،<br>۴۰ روز پس<br>از استخراج | باید در ظروف<br>کهربایی<br>نگهداری شود            |

## فرم گزارش نمونه‌برداری

|                                                           |                     |                                                                                             |         |
|-----------------------------------------------------------|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| شماره پذیرش:                                              |                     |                                                                                             |         |
| مشخصات درخواست کننده                                      |                     |                                                                                             |         |
| درخواست کننده:                                            |                     | امضاء مسئول بخش نمونه‌برداری:                                                               |         |
| شماره تماس:                                               |                     | (تایید اطلاعات اولیه)                                                                       |         |
| آدرس:                                                     |                     |                                                                                             |         |
| مشخصات نمونه برداری                                       |                     |                                                                                             |         |
| تاریخ نمونه‌برداری:                                       |                     | نام نمونه‌دار:                                                                              |         |
| نوع نمونه:                                                |                     | ساعت خروج نمونه بردار از آزمایشگاه:                                                         |         |
| محل نمونه‌برداری:                                         |                     | ساعت ورود به محل نمونه‌برداری:                                                              |         |
| نوع مخزن نمونه‌برداری:                                    |                     | ساعت خروج از محل نمونه‌برداری:                                                              |         |
| مختصات جغرافیایی محل نمونه‌برداری:                        |                     | ساعت ورود به آزمایشگاه پس از نمونه‌برداری:                                                  |         |
| مقدار و تعداد نمونه‌ها                                    |                     |                                                                                             |         |
| میکروبی:                                                  |                     | <input type="checkbox"/> بیولوژی:                                                           |         |
| شیمیایی:                                                  |                     | <input type="checkbox"/> تخم‌انگل:                                                          |         |
| آزمایش در محل                                             |                     |                                                                                             |         |
| نام آزمایش                                                | واحد                | نتیجه                                                                                       | توضیحات |
| <input type="checkbox"/> دمای نمونه اخذ شده               | ° C                 |                                                                                             |         |
| <input type="checkbox"/> دمای هوا                         | ° C                 |                                                                                             |         |
| <input type="checkbox"/> SH <sub>2</sub> (هیدروژن سولفور) | mg/l                | شماره کیت                                                                                   |         |
| <input type="checkbox"/> Cl <sub>2</sub> (کلر باقیمانده)  | mg/l                | شماره کیت                                                                                   |         |
| <input type="checkbox"/> pH                               | ---                 | شماره کیت                                                                                   |         |
| <input type="checkbox"/> DO (اکسیژن محلول)                | mg/l                | شماره کیت                                                                                   |         |
| <input type="checkbox"/> CO <sub>2</sub> (دی اکسید کربن)  | mg/l                | شماره کیت                                                                                   |         |
| <input type="checkbox"/> دبی                              | m <sup>3</sup> /Sec |                                                                                             |         |
| <input type="checkbox"/> عمق سکی                          | cm                  |                                                                                             |         |
| <input type="checkbox"/> ORP                              | mv                  |                                                                                             |         |
| <input type="checkbox"/> هدایت الکتریکی                   | μs/cm               |                                                                                             |         |
| <input type="checkbox"/> محل تخلیه پساب:                  |                     |                                                                                             |         |
| نام و امضاء درخواست کننده:                                |                     | نام و امضاء کارشناس نمونه‌برداری:                                                           |         |
|                                                           |                     | نتایج پس از بررسی: تایید <input type="checkbox"/> می‌شود. <input type="checkbox"/> نمی‌شود. |         |
|                                                           |                     | نام و امضاء مسئول بخش نمونه‌برداری:                                                         |         |

## فرم توافقنامه با مشتری برای انجام آزمون

|                                                                                                                                                                                     |           |                                    |                    |                                                           |                                                                                                                    |                                  |  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|------------------------------------|--------------------|-----------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|--|
| نام فرد / شرکت در خواست کننده:                                                                                                                                                      |           | کد ملی / شناسه ملی در خواست کننده: |                    | تلفن همراه / تلفن ثابت:                                   |                                                                                                                    | تاریخ درخواست: مهلت دریافت پاسخ: |  |
| آدرس:                                                                                                                                                                               |           |                                    |                    |                                                           |                                                                                                                    |                                  |  |
| کد پذیرش                                                                                                                                                                            | نوع نمونه | تعداد                              | آزمون های درخواستی | آیا آزمایشگاه مجاز / قادر به پذیرش نمونه فوق می‌باشد؟     | دلایل عدم انجام آزمون                                                                                              |                                  |  |
|                                                                                                                                                                                     |           |                                    |                    | بله <input type="checkbox"/> خیر <input type="checkbox"/> | مقدار نمونه کم است. وضعیت نمونه و یا نحوه ارسال نمونه مناسب نیست. تجهیزات / مواد لازم در آزمایشگاه موجود نمی باشد. |                                  |  |
|                                                                                                                                                                                     |           |                                    |                    | بله <input type="checkbox"/> خیر <input type="checkbox"/> | مقدار نمونه کم است. وضعیت نمونه و یا نحوه ارسال نمونه مناسب نیست. تجهیزات / مواد لازم در آزمایشگاه موجود نمی باشد. |                                  |  |
|                                                                                                                                                                                     |           |                                    |                    | بله <input type="checkbox"/> خیر <input type="checkbox"/> | مقدار نمونه کم است. وضعیت نمونه و یا نحوه ارسال نمونه مناسب نیست. تجهیزات / مواد لازم در آزمایشگاه موجود نمی باشد. |                                  |  |
|                                                                                                                                                                                     |           |                                    |                    | بله <input type="checkbox"/> خیر <input type="checkbox"/> | مقدار نمونه کم است. وضعیت نمونه و یا نحوه ارسال نمونه مناسب نیست. تجهیزات / مواد لازم در آزمایشگاه موجود نمی باشد. |                                  |  |
|                                                                                                                                                                                     |           |                                    |                    | بله <input type="checkbox"/> خیر <input type="checkbox"/> | مقدار نمونه کم است. وضعیت نمونه و یا نحوه ارسال نمونه مناسب نیست. تجهیزات / مواد لازم در آزمایشگاه موجود نمی باشد. |                                  |  |
|                                                                                                                                                                                     |           |                                    |                    | بله <input type="checkbox"/> خیر <input type="checkbox"/> | مقدار نمونه کم است. وضعیت نمونه و یا نحوه ارسال نمونه مناسب نیست. تجهیزات / مواد لازم در آزمایشگاه موجود نمی باشد. |                                  |  |
|                                                                                                                                                                                     |           |                                    |                    | بله <input type="checkbox"/> خیر <input type="checkbox"/> | مقدار نمونه کم است. وضعیت نمونه و یا نحوه ارسال نمونه مناسب نیست. تجهیزات / مواد لازم در آزمایشگاه موجود نمی باشد. |                                  |  |
| <input type="checkbox"/> واگذاری آزمون (ها) به پیمانکار فرعی<br>نام پیمانکار:                                                                                                       |           |                                    |                    |                                                           | توضیحات:                                                                                                           |                                  |  |
| نام آزمون (های) واگذار شده به پیمانکار فرعی:<br>باقیمانده نمونه تا یک ماه نگهداری شده و هرگونه شکایات در این بازه زمانی قابل دریافت بوده و مطابق روش اجرایی شکایات پیگیری خواهد شد. |           |                                    |                    |                                                           |                                                                                                                    |                                  |  |
| قاعده تصمیم بر اساس روش پذیرش ساده بدون باند محافظ اعمال می شود. در صورتی که قاعده دیگری مد نظر مشتری است، باید اعلام و ثبت شود.                                                    |           |                                    |                    |                                                           |                                                                                                                    |                                  |  |

نام و امضاء در خواست کننده:

امضاء مسئول پذیرش: