ព្រះរាជាណាចក្រកម្ពុជា

ជាតិ សាសនា ព្រះមហាក្សត្រ

Kingdom of Cambodia

Nation Religion King

ក្រសួងសុខាភិបាល

មជ្ឈមណ្ឌលជាតិកំចាត់រោគរបេង និងហង់សិន

Ministry of Health

National Center for Tuberculosis
and Leprosy Control

ឯកសារបណ្តុះបណ្តាលស្តីពី
មន្ទីរពិសោធន៍របេង

Training Module on TB Laboratory

ម៉ូឌុល១ : មីក្រូទស្សន៍ផ្លុយអូរ៉េសង់

Module1 : Fluorescence Microscopy

កម្មវិធីជាតិកំចាត់រោគរបេង

National TB Control Program

ធ្នូ ឆ្នាំ ២០១២

December 2012

អារម្ភកថា

ម៉ូឌុលសំរាប់ការបណ្តុះបណ្តាលស្តីពីមន្ទីរពិសោធន៍របេង ម៉ូឌុល១ស្តីពីការប្រើប្រាស់មីក្រូទស្សន៍ផ្លុយអូរ៉េសង់ គឺត្រូវបានបង្កើតឡើងដោយផ្អែកលើគោលនយោបាយរបស់អង្គការសុខភាពពិភពលោកស្តីពីមីក្រូទស្សន៍ផ្លុយអូរ៉េសង់ ហើយត្រូវបានរៀបចំជាវិធីសាស្ត្របង្រៀនសាមញ្ញសំរាប់ការស្រង់កំហាក ការពិនិត្យមីក្រូទស្សន៍ ការធ្វើរបាយការណ៍ និងការធានាគុណភាពដោយពិនិត្យភ្នាសកំហាកដោយមីក្រូទស្សន៍ផ្លុយអូរ៉េសង់។ គោលបំណងនៃការរៀបចំម៉ូឌុលនេះគឺ សំរាប់បំពេញនូវសេចក្តីត្រូវការក្នុងការបណ្តុះបណ្តាលជាក់ស្តែងដែលមានរយៈពេល៥ថ្ងៃ ដែលផ្តោតលើបុគ្គលិកមន្ទីរពិសោធន៍របេងដែលធ្វើការពិនិត្យភ្នាសកំហាករកមេរោគរបេង។

ជំងឺរបេងគឺជាដើមហេតុចំបងមួយនៃការស្លាប់ក្នុងបណ្តាប្រទេសកំពុងអភិវឌ្ឍន៍ ហើយវានៅតែជាបញ្ហាសុខភាពសាធារណៈចំបងមួយ។ យ៉ាងណាមិញការពិនិត្យភ្នាសកំហាករកមេរោគរបេងដោយមីក្រូទស្សន៍ គឺនៅតែដើរតួនាទីយ៉ាងសំខាន់ក្នុងការចាប់បានរបេងបង្ករោគភ្នាសវិជ្ជមានយ៉ាងរហ័ស និងសន្សំសំចៃព្រោះវាជាឧបករណ៍សាមញ្ញសំរាប់ការធ្វើរោគវិនិច្ឆ័យជំងឺរបេង ទោះបីជាមានការរីកចំរើនខ្លាំក្នុងបច្ចេកវិទ្យាធ្វើរោគវិនិច្ឆ័យទំនើបក៏ដោយ។

ការពិនិត្យមីក្រូទស្សន៍ប្រើពន្លឺដោយការបំពាក់ពណ៌ Ziehl-Neelsen គឺត្រូវបានប្រើប្រាស់យ៉ាងទូលំទូលាយក្នុងការធ្វើរោគវិនិច្ឆ័យរកមេរោគរបេងក្នុងមជ្ឈដ្ឋានដែលធនធាននៅមានកំរិត។ ប៉ុន្តែវាជាបច្ចេកវិទ្យាដែលប្រើរយៈពេលយូរ និងធ្វើអោយបន្ទុកការងារមានកំរិតសំរាប់អ្នកអនុវត្ត។ នាពេលថ្មីៗ បច្ចេកវិទ្យាដែលប្រើប្រាស់ពន្លឺ LED បានធ្វើអោយមានភាពងាយស្រួល ក្នុងការប្រើប្រាស់មីក្រូទសន្សន៍ផ្លុយអូរ៉េសង់ក្នុងមជ្ឈដ្ឋានដែលធនធាននៅមានកំរិតដោយគ្មានផលលំបាករួមបញ្ចូលទាំងតំលៃរបស់វា។ ការសិក្សាមួយចំនួនបានផ្តល់របាយការណ៍ពីគុណសម្បត្តិនៃមីក្រូទស្សន៍ផ្លុយអូរ៉េសង់ប្រើប្រាស់ពន្លឺ LED ដោយ LED មានអាយុកាលយូរ ហើយមិនត្រូវការបន្ទប់ងងឹតក៏ដូចជាបានបន្ថយបន្ទុកការងារ និងភាពចាប់បានខ្ពស់ជាងចំពោះការពិនិត្យភ្នាសកំហាកដោយមីក្រូទស្សន៍។

កម្មវិធីជាតិកំចាត់រោគរបេង បញ្ជាក់នៅក្នុងផែនការយុទ្ធសាស្ត្រសុខាភិបាលជាតិសំរាប់ការប្រយុទ្ធប្រឆាំងនឹងជំងឺរបេងក្នុងប្រទេសកម្ពុជា ២០១១-២០១៥ ថាសេវាកម្មមីក្រូទស្សន៍ផ្លុយអូរ៉េសង់ដែលប្រើប្រាស់ពន្លឺ LED គួរតែត្រូវបានធ្វើការពង្រីកទៅគ្រប់ខេត្តដោយសារតែគុណសម្បត្តិដែលបានរៀបរាប់ដូចខាងដើម។

ជាចុងបញ្ចប់ ខ្ញុំសង្ឃឹមជឿជាក់ថាម៉ូឌុល១ ក៏ដូចជាម៉ូឌុល២ស្តីពីការបណ្តុះមេរោគ និងម៉ូឌុល៣ស្តីពីការធ្វើតេស្តរកភាពស៊ាំនៃថ្នាំ(DST) នឹងមានប្រយោជន៍សំរាប់សិក្ខាកាមដើម្បីទទួលបានទាំងចំណេះដឹង និងបច្ចេកទេសស្តីពីសេវាកម្មមីក្រូទស្សន៍ផ្លុយអូរ៉េសង់ក្នុងប្រទេសកម្ពុជា។

រាជធានីភ្នំពេញ, ថ្ងៃទី ខែធ្នូ ឆ្នាំ២០១២

នាយកមជ្ឍមណ្ឌលជាតិកំចាត់រោគរបេង និងហង់សិន

វេជ្ជបណ្ឌិត ម៉ៅ តាន់អ៊ាង

សេចក្តីថ្លែងអំណរគុណ

យើងខ្ញុំសូមថ្លែងអំណរគុណចំពោះគំរោង CENAT/JICA National TB Control Project ដែលបានបកប្រែ និងចងក្រងនូវម៉ូឌុលសំរាប់ការបណ្តុះបណ្តាលសំរាប់ការប្រើប្រាស់ក្នុងប្រទេសកម្ពុជា។ ឆ្លៀតឱកាសនេះ យើងខ្ញុំក៏សូមថ្លែងអំណរគុណចំពោះ TBCTA/USAID និង US-CDC ចំពោះការផ្តល់នូវឧបករណ៍បង្រៀន និងសំភារៈជាច្រើន។

Foreword

This "Training Module on TB Laboratory" (Module 1: Fluorescence Microscopy) is based on the WHO fluorescence microscopy policy and is designed to be a simple teaching method for sputum collection, examination, reporting and quality assurance by direct smear fluorescence microscopy. It aims to address the needs for 5-day practical training which is targeting laboratory staff working on sputum smear microscopy bench.

Tuberculosis is one of the main causes of death in developing countries and it remains a major public health problem. Yet sputum smear microscopy still plays an important role in detecting most infectious, smear-positive TB rapidly and economically as a basic tool for TB diagnostics in spite of major advances in modern diagnostic technologies.

Conventional light microscopy using Ziehl-Neelsen stain is the most widely available test for diagnosis of TB in resource-limited settings. However, it is a time-consuming technology and renders limitation of workload to the operator. Recently, Light Emitting Diode (LED) technologies have made it possible to easily access the fluorescence microscopy in resource-limited settings without any hampers including its cost. Several studies have already reported the advantages of LED-based fluorescence microscopy due to long life span of LED and no need for dark room as well as reduced workload and higher sensitivity as smear microscopy.

The National TB Control Programme states in National Health Strategic Plan for TB Control in Cambodia 2011-2015 that LED-based fluorescence microscopy services should be expanded to all provinces because of the advantages mentioned above.

Finally, I wish that Module 1 as well as Module 2 (Culture Examination) and Module 3 (Drug Susceptible Testing) will be useful for participants to gain both knowledge and technique of fluorescence microscopy services in Cambodia.

Phnom Penh, December, 2012

National Centre for TB and Leprosy Control
Director

Dr. Mao Tan Eang

Acknowledgments

We acknowledge the CENAT/JICA National TB Control Project that compiled and translated this training module for use in Cambodia. We will also take this opportunity to thank TBCTA/USAID and US-CDC for providing many lecture tools and materials.

មាតិកា

ម៉ូឌុល ១-១ **វិសាលភាពនៃការបណ្តុះបណ្តាល** (Scope of training)……………..………09

ម៉ូឌុល ១-២ **កាលបរិច្ឆេទនៃការបណ្តុះបណ្តាល** (Training Schedule)……………...……12

ម៉ូឌុល ១-៣ **សំភារះសំរាប់ការបង្រៀន** (Lecture material)……………...…………….……15

ម៉ូឌុល ១-៣-១ ប្រសិទ្ធិភាពនៃមុខងារមីក្រូទស្សន៍ផ្ទុយអូរ៉េសង់ក្នុងជំរុញស្ថានភាពរបេងជាសកល…..17

ម៉ូឌុល ១-៣-២ ការរៀបចំប្រតិករសំរាប់ការពិនិត្យមីក្រូទស្សន៍ផ្ទុយអូរ៉េសង់ ……………………..…21

ម៉ូឌុល ១-៣-៣ ការធ្វើស្នាសកំហាក និងការបំពាក់ពណ៌ …………………………………….......32

ម៉ូឌុល ១-៣-៤ របាយការណ៍ និង កំណត់ត្រា ……………………………………………….49

ម៉ូឌុល ១-៤ **ការវាយតំលៃ** (Evaluation) ………………………………….......……. 57

ម៉ូឌុល ១-៤-១ ការវាយតំលៃអ្នកចូលរួម ដោយការធ្វើ Pre និង Post-test ……………………...……59

ម៉ូឌុល ១-៤-២ ការវាយតំលៃវគ្គបណ្តុះបណ្តាល ………………………………………….….…60

ម៉ូឌុល ១-៤-៣ កំរងសំណួរសំរាប់អ្នកចូលរួម ……………………………………………..…..61

Content

Module 1-1 Scope of training……………………………..……………..……..…09

Module 1-2 Training schedule……………………………………………...…..…12

Module 1-3 Lecture materials……………………………..……….……..……15

Module 1-3-1 Efficiency of fluorescence microscopy for TB globally…………………..17

Module 1-3-2 Reagents preparation for fluorescence microscopy …………………..…21

Module 1-3-3 Smear preparation and staining…..……………………………......32

Module 1-3-4 Reporting and recording…..……………………………………49

Module 1-4 Evaluation ……………………..……………………….......……. 57

Module 1-4-1 Evaluation of participants by Pre and Post-test……………...……59

Module 1-4-2 Training evaluation………....……………………………….….…60

Module 1-4-3 Questionnaire for participants ……………………………………...61

ម៉ូឌុល ១-១

វិសាលភាពនៃការបណ្ដុះបណ្ដាល

ម៉ូឌុល១: មីក្រូទស្សន៍ផ្លុយអូរ៉េសង់

គោលបំណងការបណ្ដុះបណ្ដាល

សិក្ខាកាមនឹងទទួលបានចំណេះដឹង និងជំនាញក្នុងការពិនិត្យដោយមីក្រូទស្សន៍ផ្លុយអូរ៉េសង់ យ៉ាងសុក្រឹត្យ និងដោយទុកចិត្ត ប្រកបដោយសុវត្ថិភាព ទាន់ពេលវេលា និងវិជ្ជាជីវៈ ដើម្បីអនុវត្តកម្មវិធីរបេងជាតិ និងដើម្បីកាត់បន្ថយបន្ទុកជំងឺរបេងក្នុងប្រទេសកម្ពុជាក្នុងដំណើរការយូរអង្វែង។

សិក្ខាកាមដែលជាគោលដៅ

បុគ្គលិកមន្ទីរពិសោធន៍ដែលធ្វើការពិនិត្យភ្នាសកំហាកដោយមីក្រូទស្សន៍ពីថ្នាក់ខេត្តដល់ថ្នាក់ជាតិ ស្របតាមផែនការយុទ្ធសាស្ត្រជាតិស្តីពីការប្រយុទ្ធនឹងជំងឺរបេង ២០១១-២០១៥

- បុគ្គលិកមន្ទីរពិសោធន៍មន្ទីរពេទ្យបង្អែកខេត្ត
- បុគ្គលិកមន្ទីរពិសោធន៍មន្ទីរពេទ្យជាតិ
- បុគ្គលិកមន្ទីរពិសោធន៍ដែលចាំបាច់ផ្សេងទៀត

លក្ខខណ្ឌដើម្បីទទួលបានលិខិតបញ្ជាក់

សិក្ខាកាមនឹងត្រូវបានផ្តល់នូវលិខិតបញ្ជាក់ បន្ទាប់ពីបានបញ្ចប់ដោយជោគជ័យនូវការបណ្តុះបណ្តាលមីក្រូទស្សន៍ផ្លុយអូរ៉េសង់ដោយ៖

- វត្តមានប្រចាំថ្ងៃ និងការចូលរួមយ៉ាងសកម្ម ក្នុងការអនុវត្តអំឡុងពេលបណ្តុះបណ្តាល
- បានបំពេញនូវសន្លឹកតេស្តមុន និងក្រោយការបណ្តុះបណ្តាល
- បានរាយការណ៍លទ្ធផលភ្នាសរកមេរោគរបេងនៃការពិនិត្យឡាមផានែលដោយជោគជ័យ

វិធីសាស្ត្របង្រៀន និងសកម្មភាព

ការបណ្តុះបណ្តាលមីក្រូទស្សន៍ផ្លុយអូរ៉េសង់ រួមមានសកម្មភាពដូចតទៅ ដែលបំពេញនូវគោលបំណងនៃការបណ្តុះបណ្តាល៖

វិធីសាស្ត្របង្រៀន និងសកម្មភាព (ត)

- **បទបង្ហាញ** នឹងផ្តល់អោយសិក្ខាកាមទទួលបាននូវចំណេះដឹងតាមរយៈការផ្លាស់ប្តូរពត៌មានទៅវិញទៅមក។
- **ក្រុមពិភាក្សា** នឹងអនុញ្ញាតិអោយសិក្ខាកាមចែករំលែកនូវបទពិសោធន៍ និងមតិ។
- **បទបង្ហាញជាវីដេអូ** នឹងណែនាំសិក្ខាកាមចំពោះដំណាក់កាលនៃនិតិវិធី សំរាប់ការស្រង់កំហាក ការពាសកំហាក ការបំពាក់ពណ៌ និងការពិនិត្យមីក្រូទស្សន៍។
- **ការធ្វើបង្ហាញ**(Demonstrations) នឹងអនុញ្ញាតិឲ្យសិក្ខាកាម អង្កេតនូវនិតិវិធី មុនការអនុវត្តនិតិវិធីដោយខ្លួនឯង
- **សំហាត់អនុវត្ត** នឹងអនុញ្ញាតិឲ្យសិក្ខាកាមទទួលនូវបទពិសោធន៍ នៃសកម្មភាពអនុវត្តជាច្រើន ក្នុងការពិនិត្យរកមេរោគរបេងដោយមីក្រូទស្សន៍ផ្លុយអូរ៉េសង់។

ម៉ូឌុល ១-២

កាលវិភាគនៃការបណ្តុះបណ្តាល

ម៉ូឌុល១: មីក្រូទស្សន៍ផ្តុយអូរ៉េសង់

ថ្ងៃទី១

ម៉ោង	មាតិកា	លេខម៉ូឌុល
០៨:០០ - ០៨:៣០	ការចុះឈ្មោះ	
០៨:៣០ - ០៩:០០	ពិធីបើក និងសេចក្តីផ្តើម	ម៉ូឌុល ១-១, ២
០៩:៣០ - ០៩:៥០	ការធ្វើមុនការបណ្តុះបណ្តាល	ម៉ូឌុល ១-៤, ១
០៩:៥០ - ១១:៣០	(ការបង្រៀន) ប្រសិទ្ធិភាពមុខងារនៃមីក្រូទស្សន៍ផ្លុយអូរ៉េសង់	ម៉ូឌុល ១-៣, ១
១៤:០០ - ១៥:០០	(ការបង្រៀន) ការលាយប្រតិករ និងគ្រប់គ្រងគុណភាព	ម៉ូឌុល ១-៣, ២
១៥:៣០ - ១៧:០០	(ការបង្រៀន) ការពាសកំហាក បំពាក់ពណ៌ និងការពិនិត្យដោយមីក្រូទស្សន៍រកមេរោគរបេង	ម៉ូឌុល ១-៣-៣, ៤

ថ្ងៃទី២

ម៉ោង	មាតិកា	លេខម៉ូឌុល
០៨:០០ - ០៨:៣០	(វីដេអូ) ការពាសកំហាក បំពាក់ពណ៌ និងការពិនិត្យ មីក្រូទស្សន៍រកមេរោគរបេង	
០៩:០០ - ១០:០០	(ការអនុវត្តន៍) របៀបប្រើប្រាស់មីក្រូទស្សន៍ផ្លុយអូរ៉េសង់	
១០:០០ - ១១:០០	(ការអនុវត្តន៍) ការពិនិត្យឡាមផានែល (១០ឡាម)	
១១:០០ - ១១:៣០	(ការអនុវត្តន៍) ការពាសឡាម (១០ឡាម ZN និង ១០ឡាម FL)	
១៤:០០ - ១៥:០០	(ការអនុវត្តន៍) ការពាសឡាម (១០ឡាម ZN និង ១០ឡាម FL)	
១៥:៣០ - ១៧:០០	(ការអនុវត្តន៍) ការពាសឡាម (១០ឡាម ZN និង ១០ឡាម FL)	

ថ្ងៃទី៣

ម៉ោង	មាតិកា	លេខម៉ូឌុល
០៨:០០ - ០៩:០០	(ការអនុវត្តន៍) ការបំពាក់ពណ៌ និងការពិនិត្យ មីក្រូទស្សន៍រកមេរោគរបេង	
០៩:៣០ - ១១:៣០	(ការអនុវត្តន៍) ការបំពាក់ពណ៌ និងការពិនិត្យ មីក្រូទស្សន៍រកមេរោគរបេង	
១៤:០០ - ១៥:៣០	(ការអនុវត្តន៍) ការបំពាក់ពណ៌ និងការពិនិត្យ មីក្រូទស្សន៍រកមេរោគរបេង	
១៦:០០ - ១៧:០០	(ការអនុវត្តន៍) ការបំពាក់ពណ៌ និងការពិនិត្យ មីក្រូទស្សន៍រកមេរោគរបេង	

ថ្ងៃទី៤

ម៉ោង	មាតិកា	លេខម៉ូឌុល
០៨:០០ - ០៩:០០	(ការអនុវត្តន៍) ការបំពាក់ពណ៌ និងការពិនិត្យ មីក្រូទស្សន៍រកមេរោគរបេង	
០៩:៣០ - ១១:៣០	(ការអនុវត្តន៍) ការបំពាក់ពណ៌ និងការពិនិត្យ មីក្រូទស្សន៍រកមេរោគរបេង	
១៤:០០ - ១៥:៣០	(ការអនុវត្តន៍) ការបំពាក់ពណ៌ និងការពិនិត្យ មីក្រូទស្សន៍រកមេរោគរបេង	
១៦:០០ - ១៧:០០	(ការអនុវត្តន៍) ការបំពាក់ពណ៌ និងការពិនិត្យ មីក្រូទស្សន៍រកមេរោគរបេង	

ថ្ងៃទី៥

ម៉ោង	មាតិកា	លេខម៉ូឌុល
០៨:០០ - ០៩:៣០	(ការអនុវត្តន៍ ការវាយតំលៃ) ការពិនិត្យឡាមជានែល	
១០:០០ - ១០:៣០	ការធ្វើ តេស្តក្រោយការបណ្តុះបណ្តាល	ម៉ូឌុល ១-៤-១
១០:៣០ - ១១:៣០	ការវាយតំលៃវគ្គបណ្តុះបណ្តាល	ម៉ូឌុល ១-៤-២
១៤:០០ - ១៥:៣០	ការពិភាក្សា	
16:00 – 17:00	សរុបសេចក្តី និងបិទវគ្គ	

ម៉ូឌុល ១-៣ សំភារៈសំរាប់ការបង្រៀន (Lecture material)

ម៉ូឌុល ១-៣-១ លទ្ធភាពនៃមុខងារមីក្រូទស្សន៍ផ្គុយអូរ៉េសង់ក្នុងជំរុញស្ថានភាពរបេងជាសកល

ម៉ូឌុល ១-៣-២ ការរៀបចំប្រតិករសំរាប់ការពិនិត្យមីក្រូទស្សន៍ផ្គុយអូរ៉េសង់

ម៉ូឌុល ១-៣-៣ ការរៀបចំផ្ទាសកំហាក និងការបំពាក់ពណ៌

ម៉ូឌុល ១-៣-៤ របាយការណ៍ និង កំណត់ត្រា

ម៉ូឌុល ១-៣-១

ប្រសិទ្ធិភាពនៃមុខងារមីក្រូទស្សន៍ផ្លុយអូរ៉េសង់សម្រាប់របេងជាសកល

Efficiency of fluorescence microscopy for TB globally

ការបំពាក់ពណ៌ Ziehl Nielsen និងមីក្រូទស្សន៍ពន្លឺធម្មតា

ZN:AFB Smear Microscopy

- កម្មវិធីរបេងជាតិកម្ពុជាបានអនុសាសន៍ថាយ៉ាងហោចណាស់ ត្រូវពិនិត្យឱ្យបាន ៣០០ រូបភាពក្នុងមួយឡាម ដើម្បីផ្តល់នូវលទ្ធផលអវិជ្ជមានត្រឹមត្រូវ ។
  Cambodia NTP recommends **at least 300 VF** of screening per slide to correctly identify negative smear results.
- ក្នុងស្ថានភាពប្រចាំថៃ ការមើលឡាមមួយៗ គឺតែងតែតិចជាង តម្រូវការអប្បបរមា ។
  Under routine field conditions, it is often far less than the minimum required.
- ស្ទើរតែ ៥០ភាគរយនៃករណីទាំងអស់ត្រូវបាត់បង់ ដោយមើលមិនឃើញក្នុងការស្រាវជ្រាវប្រចាំថ្ងៃ ជាពិសេសចំពោះភ្នាសវិជ្ជមានជាចំនួន ។
  Almost 50% of cases were missed during routine investigation**, especially for scanty smear.**
- មានឥទ្ធិពលអវិជ្ជមានក្នុងការរកឃើញឱ្យលឿននូវករណី និងការធ្វើរោគវិនិច្ឆ័យយឺត ។
  Negative impact on early case detection and diagnostic delay.

មីក្រូទស្សន៍ផ្លុយអូរ៉េសង់

Fluorescence Microscopy (FM)

- ត្រូវការរយៈពេលមធ្យមតែ១នាទីដើម្បីមើលភ្នាសកំហាក គឺស្មើនឹង៤នាទី បើប្រៀបធៀបទៅនឹង ZN ។
  Mean time of 1 min to examine a sputum smear with FM compared to 4 min with ZN.
- FMអនុញ្ញាតឱ្យអ្នកបច្ចេកទេសមានពេលវេលាច្រើនជាង ក្នុងការពិនិត្យអោយជាក់ច្បាស់នូវលទ្ធផលអវិជ្ជមាន ។
  FM allows more time to be spent confirming negative smear results.
- FM មានលក្ខណៈប្រសើរជាងក្នុងការពិនិត្យរកមេរោគរបេង ហើយមានភាពជាក់លាក់ប្រហាក់ប្រហែលទៅនឹង ZN ។
  FM has slightly higher sensitivity and equivalent specificity compared to ZN as AFB has fluorescence and scanning by x 400
- ដំណើរការនេះងាយជាង ZN ។
  Procedure is easier than with ZN.

មីក្រូទស្សន៍ផ្លុយអូរ៉េសង់ធម្មតា

Fluorescence Microscopy (Conventional FM)

មូលហេតុដែលយើងមិនប្រើ FM ធម្មតាក្នុងការងារប្រចាំថ្ងៃ

Reasons for not using standard FM routinely.

១-តំរូវការមីក្រូទស្សន៍ដែលមានលក្ខណៈស្មុគស្មាញហើយថ្លៃ ។

The need for a more complex and expensive fluorescent microscope.

២-ការថែទាំមីក្រូទស្សន៍ មានតម្លៃថ្លៃ ។

High maintenance costs by conventional mercury lamp

៣-ការត្រូវការអំពូលចង្កៀងពិសេស ។

Requirements for a short-arc mercury vapor lamp.

៤-តំរូវការបន្ទប់ងងឹត ។

Need of dark room.

អំពូលបារតក្នុងមីក្រូទស្សន៍ FMធម្មតា

Mercury vapour lamps in conventional FM.

- តម្លៃថ្លៃ ។

  High cost.

- អំពូលនេះអាចប្រើបាន តែ២០០ម៉ោងប៉ុណ្ណោះ ។

  Limited lifespan (typically 200h).

- អំពូលអាចដាច់បើយើងបើកបិទៗ វាច្រើនដងពេក រឺ ពេលដាច់ ភ្លើងញឹកញាប់ ។

  Repeated on-and-off switching (unreliable local power supply).

- ភ្លើងមិនគ្រប់គ្រាន់ ។

  Energy inefficient.

អំពូលបារតក្នុងមីក្រូទស្សន៍ FMធម្មតា

Mercury vapour lamps in conventional FM.

- ត្រូវការភ្លើងជាប់ ។

  Require an extensive power supply.

- អាចខូច រឺធ្លាក់បែក ។

  Fail catastrophically.

- វាបញ្ចេញចំហាយបារតពុលទៅក្នុងបរិយាកាស ។

  Toxic mercury vapor released into environment.

បច្ចេកវិទ្យា LED
LED technology

- ផ្តល់ប្រភពពន្លឺដែលថោកហើយអាចទុកចិត្តបាន ។

  Provides a cheap and reliable light source.

- LEDនេះអាចប្រើបានរយៈពេល ១៥0 000 ម៉ោង ។

  Usable lifespan of 150 000 h.

- ការបើកបិទៗច្រើនដងមិនមានការកាត់បន្ថយអាយុកាលប្រើ ។

  Repeated on/off switching does not reduce lifespan.

បច្ចេកវិទ្យា LED
LED technology

- អំពូលLED មិនធ្វើឱ្យមានចំហាយពុល ។

  LEDs do not pose a potential toxicity risk.

- មិនត្រូវការបន្ទប់ងងឹត ។

  No need for a dark room.

- មិនត្រូវការប្រេងពង្រីក ។

  No need for immersion oil.

ម៉ូឌុល ១-៣-២

ការលាយប្រតិករសំរាប់មីក្រូទស្សន៍ផ្លុយអូរ៉េសង់

Reagents preparation for fluorescence microscopy

គោលបំណងនៃការសិក្សា Learning objectives

ចុងបញ្ចប់នៃការសិក្សា អ្នកចូលរួមនឹងអាច At the end of the module, participants will be able to

- អធិប្បាយនូវសារៈសំខាន់នៃការប្រើប្រាស់ជាតិគីមីដែលមានគុណភាពសំរាប់ការលាយប្រតិករ Describe the importance of using quality chemicals for reagent preparation
- លាយប្រតិករសម្រាប់ អូរាមីន Prepare reagents required for the Auramine method
- អធិប្បាយសុវត្ថិភាពចាំបាច់សម្រាប់ការលាយប្រតិករ Describe the safety requirements for reagent preparation
- ប្រើឡាមកុងត្រូលវិជ្ជមាន និងអវិជ្ជមានសម្រាប់ការពិនិត្យគុណភាពប្រតិករអូរាមីន Use positive and negative control slides for the Quality Control of Auramine reagents
- ពន្យល់ពីការអនុវត្ត និងភាពញឹកញាប់ នៃវិធីសាស្ត្រត្រួតពិនិត្យគុណភាព Explain the use and frequency of routine quality control procedures

មាតិកា Content overview

- សំភារៈ និងឧបករណ៍ចាំបាច់សម្រាប់ការលាយប្រតិករ Equipment required for staining reagent preparation
- សារធាតុចាំបាច់សម្រាប់ការលាយប្រតិករ Reagents required for staining reagent preparation
- វិធីសាស្ត្រសម្រាប់ការបំពាក់ពណ៌ Methods for staining reagent preparation
- កុងត្រូលគុណភាពប្រតិករដែលទើបលាយថ្មី Quality control (QC) of freshly prepared staining reagents
- ការទុកដាក់ប្រតិករ Storage of staining reagents

សំភារៈចាំបាច់ Required materials

- Reagents and chemicals:
  - Auramine O
  - Phenol
  - Alcohol
  - Hydrochloric Acid
  - Potassium permanganate
  - Purified water

Equipment:
  - Weigh Balance
  - Measuring cylinders
  - Stirring plate
  - Magnetic stirrers

- Materials:
  - Flask or bottle
  - Funnel
  - Weigh paper
  - Clean reagents bottles
  - Labels or permanent marker

- Miscellaneous:
  - Gloves
  - Lab coat
  - Safety glasses
  - QC slides
  - Register

គុណភាពសារធាតុដើម: ភាពជាក់លាក់

Reagent quality: specifications

Reagent Name	Specification
Auramine O	Purchased from well known manufacturers or those certified by the Biological Stain Commission
Phenol crystals	Near colorless – never black
Alcohol	Technical grade
Acid	Technical grade
Water	Distilled or purified, not tap water

5

ការកែតម្រូវភាពសុទ្ធ Correcting for dye purity

ឧទាហរណ៍ Example:

- ពេលលាយ 0,១% អូរាមីន When preparing 0.1% Auramine O
- ភាពសុទ្ធ=៧៥% Dye content = 75%
- ត្រូវការ ១ ក្រាម អូរាមីន Need 1 g Auramine O
- លេខទសភាគនៃ៧៥% = 0,៧៥ Decimal equivalent of 75% = 0.75
- ១ ក្រ/0,៧៥ = ១,៣៣ ក្រ 1g / 0.75 = 1.33 g
- ត្រូវតែថ្លឹង ១,៣៣ ក្រ អូរាមីនដើម្បីបាន អូរាមីនសុទ្ធ ១ក្រ
  1.33 g of Auramine O powder must be weighed to have 1g of the dye available

6

ជញ្ជីងថ្លឹង Weighing balance

- ឧបករណ៏ជាក់លាក់ងាយបែក Fragile, precision instrument
- ប្រុងប្រយ័ត្ន Handle with care
- ប្រើលើផ្ទៃរាបស្មើ Must be used on level surface
- មើលការណែនាំក្នុងការប្រើប្រាស់ Consult manual for operating instructions

ការប្រើប្រាស់ជញ្ជីង Using the balance

- ជញ្ជីងមិនចាំបាច់ជាក់លាក់ពេកៈ ± ០,១ក្រាម គឺគ្រប់គ្រាន់ High precision balance not needed: ± 0.1 g is sufficient
- រក្សាជញ្ជីង (និងថ្លឹង បើមាន) ស្អាត និងស្ងួត Keep balance (and weights, if any) clean and dry
- ត្រូវតែប្រើកំប៉ុង ឬក្រដាស់ថ្លឹងជានិច្ច។ ត្រូវតែតម្រូវត្រឡប់ទៅសូន្យមុនប្រើ Always use a weighing container or paper; correct back to zero

គុណភាពទឹក Water quality

- ត្រូវតែគ្មានមេរោគរបេង Must be free of mycobacteria
- ប្រើទឹកបិទ ឬទឹកបន្សុទ្ធ Use distilled or purified water
- មិនត្រូវប្រើ Do NOT use:
  - ទឹកភ្លៀង rain water
  - ទឹករូប៊ីណេ tap water
  - ទឹកដាំពុះ boiled water

0.1% Auramine O

- ក្នុង ១ លីត្រ **Contains per liter:**

– Auramine O	1 grams
– phenol	30 grams
– 95% ethanol or methanol	100 ml
– water	up to 1 liter

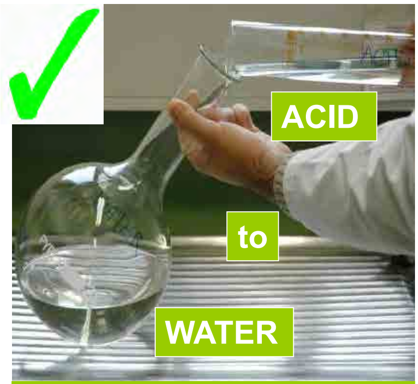
0.1% Auramine O

- ការលាយ **Preparation:**
  - — រំលាយ អូរាមីនក្នុអាល់កុល dissolve Auramine in alcohol
  - — រំលាយ ហ្វេណុលក្នុទឹក dissolve phenol in water
  - – លាយបញ្ចូលល្បាយទាំងពីរឱ្យសព្វដោយបង្វិលរយៈពេលប្រហែល១ម៉ោង mix both solution well by swirlling for about one hour
  - — ច្រោះល្បាយនោះ ដោយប្រើក្រដាស់ច្រោះ
  - — រក្សាប្រតិករនៅក្នុងដបងងឹត
  - — បិទស្លាកដបថា 0,១% អូរាមីន ។ ចុះថ្ងៃខែផលិត ។ ត្រូវតែចុះថ្ងៃខែបើកប្រើ ។ ល្បាយនេះមិនត្រូវប្រើលើសពី១ខែ ។ Label the bottle '0.1% Auramine', add date and sign your initials. The date first opened has to be mentioned. Stocks and solutions should not be used over 1 month

ល្បាយបំបាត់ពណ៌ Decolorizing solution: 0.5% Acid alcohol solution

- ក្នុង ១លីត្រ Contains per liter:
  - – Hydrochloric acid (fuming) - 5 ml
  - – 95% denatured alcohol - up to 1 liter
- ការលាយ Preparation:
  - — ដាក់អាល់កុល ៩៥% ១លីត្រទៅក្នុងដប Add one liter of 95% denatured alcohol to a 2-liter flask
  - — បន្ថែមអាស៊ីត ***យឺតៗ*** Slowly add the acid
  - — លាយឱ្យសព្វហើយទុកឱ្យត្រជាក់មុននឹងប្រើ Mix well and allow to cool before use
  - — បិទស្លាកដបថា 0,៥% អាស៊ីត-អាល់កុល ។ ចុះថ្ងៃខែផលិត ។ ត្រូវតែចុះថ្ងៃខែបើកប្រើ ។ ល្បាយនេះមិនត្រូវប្រើលើសពី៦ខែ ។

Diluting acids safely



Always add acid to water

NEVER add water to acid

0.5% permanganate

- 1 liter of 0.5% potassium permanganate
  - ថ្លឹង៥ក្រាម ម្សៅ ប៉ូតាសស្យូម ពែម៉ង់ហ្គាណាត Weigh 5 g of potassium permanganate
  - ដាក់ម្សៅនោះទៅក្នុង ០,៥លីត្រដែលមាននៅក្នុងដប Add the powder to 0.5 l of pure water, which has been placed in a conical flask
  - បង្វិលដបដើម្បីរម្លាយម្សៅ Swirl the contents of the flask to dissolve the dye
  - ថែមទឹក០,៥លីត្រទៀត ហើយច្របល់ចូលគ្នាម្តងទៀត Add another 0.5 l of water and mix again
  - បិទស្លាកដបថា ០,៥% ប៉ូតាសស្យូម ពែម៉ង់ហ្គាណាត ។ ចុះថ្ងៃខែផលិត ។ ត្រូវតែចុះថ្ងៃខែបើកប្រើ ។ ល្បាយនេះមិនត្រូវប្រើលើសពី១ខែ ។

ការពិនិត្យគុណភាពប្រតិករថ្មី QC of new staining reagents

- ចាំបាច់ ។ ចុះលទ្ធលក្នុងសៀវភៅ Always needed; record results in logbook
- ឡាមកុងត្រូល វិជ្ជមាន នឹងអវិជ្ជមាន Positive as well as negative control slides
  - Positives: 1+ TB patient sputum; exact counts
  - Negatives: known AFB negative specimen
- ឡាមវិជ្ជមានបំពាក់ពណ៌តែម្តង Positives to be stained once
  - ពិនិត្យរកចំនួនមេរោគរបេង និងគុណភាពពណ៌ Check for the number of AFB and staining quality
- ឡាមអវិជ្ជមានៈ ធ្វើឡើងវិញ៣ដង Negatives: Auramine stain repeated 3 times
  - ពិនិត្យរកចំនួនមេរោគរបេង Check for contaminating AFB
  - ធានាថាផ្ទៃភ្នាសពណ៌ខ្មៅហើយស្អាត Ensure background black and clean

Example of logbook for QC of FM staining reagents

Batches checked on date 1/9/09: Auramine O (Au O) batch 1/9/09, Hydrochloric acid batch 1/9/09, Potassium permanganate batch 1/9/09 Average grading positive controls (FM 40 x objective): no. 345 = 90/40 fields; no. 411 = 66/40 fields				
Control slide	AFB color	AFB number	Decolorization	Decision
345	Bright yellow	80/40 (40x F)	OK	Accept Au O
411	Bright yellow	60/40 (40x F)	OK	Accept Au O
NEG	NA	None in 40 (40 x F)	OK	Accept others
NEG	NA	None in 40 (40 x F)	OK	Accept others

Example 2 - FM

Batches checked on date 17/5/08: Auramine O (Au O (CF) batch 17/5/08, Hydrochloric acid batch 17/5/08, Potassium permanganate batch 17/5/08 Average grading positive controls (FM 40 x objective): no. 345 = 90/40 fields; no. 411 = 66/40 fields				
Control Slide	AFB color	AFB number	Decolorization	Decision
345	weak yellow	2/40 (40x F)	OK	Reject Au O
411	NA	0/40 (40x F)	OK	Reject Au O
NEG	NA	None in 40 (40 x F)	OK	Accept others
NEG	NA	None in 40 (40 x F)	OK	Accept others

Note: This batch of Au O is bad; all has been discarded. Hydrochloric acid is OK.

Example 3 - FM

Batches checked on 18/5/08: Auramine O (Au O (CF) batch 18/5/08, Potassium permanganate batch 18/5/08 (+ old Hydrochloric acid solution) Average grading positive controls (FM 40 x objective): no. 364 = 151/40 fields; no. 428 = 147/40 fields				
Control Slide	AFB color	AFB number	Decolorization	Decision
364	Bright yellow	124/40 (40x F)	OK	Accept Au O
428	Bright yellow	120/40 (40x F)	OK	Accept Au O
NEG	Bright yellow	15/40 (40x F)	OK	Reject others
NEG	NA	None in 40 (40 x F)	OK	Accept others

Note: contamination, probably Au O. To be checked further using only one of the new staining reagents on negative controls (+ old good stains of the other types).

Auramine O stains

Batches checked on date :_______ Auramine O (Au O) batch ______, Hydrochloric acid batch _______, Potassium permanganate batch _______, methylene blue batch________ (if used) Average grading positive controls (FM 20 x objective): no. ____ = ____/40 fields; no.____= _____/40 fields				
Control slide	AFB color	AFB number	Decolorization	Decision
Note:				

ការបិទស្លាក និងការទុកដាក់ Reagent labeling and storage

- ដបនិមួយៗត្រូវតែបិទស្លាក យ៉ាងហោចណាស់ Each bottle or container must be labeled with at least
  - ឈ្មោះប្រតិករ Name of reagent
  - ថ្ងៃ ខែ ឆ្នាំ លាយ Date of preparation
- រក្សារាល់ប្រតិករទាំងអស់ក្នុងកន្លែងត្រជាក់ មិនចំពន្លឺថ្ងៃ Store all reagents in a cool place away from direct sunlight

សង្ខេប Summary

- ហេតុអ្វីត្រូវការសាធាតុផ្សំដែលមានគុណភាពសម្រាប់លាយប្រតិករ? Why must quality reagents be used to prepare staining reagents?
- ហេតុអ្វីការលាយប្រតិករឱ្យត្រឹមត្រូវ គឺជាការចាំបាច់? Why is accurate preparation of reagents necessary to obtain optimum staining results?
- តើឡាមកុងត្រូលមានតួនាទីអ្វីក្នុងការវាយតម្លៃប្រតិករដែលលាយថ្មី? What is the role of control smears in evaluating the performance of newly prepared staining solutions?
- ហេតុអ្វីបានជាប្រតិករត្រូវតែរក្សាទុកនៅក្នុងដបស្អាត ហើយមិនឱ្យត្រូវពន្លឺថ្ងៃ? Why should reagents be stored in clean bottles and out of direct sunlight?

ម៉ូឌុល ១-៣-៣

ការធ្វើភ្នាសកំហាក និងការបំពាក់ពណ៌
Smear preparation and staining

គោលបំណងនៃការសិក្សា Learning objectives

ចុងបញ្ចប់នៃការសិក្សា អ្នកចូលរួមនឹងអាច
At the end of the module, participants will be able to

- ធ្វើភ្នាសកំហាកប្រកបដោយសុវត្ថិភាព
  Safely prepare sputum smears
- ធ្វើភ្នាសកំហាកដែលមានគុណភាពល្អ
  Prepare good quality sputum smears
- រកឃើញបញ្ហានៃការធ្វើភ្នាសកំហាក
  Identify problems with smear preparation
- បំពាក់ពណ៌តាមរបៀបអូរ៉ាមីន Stain with Auramine O method on sputum smears
- ដោះស្រាយបញ្ហាជាមួយអូរ៉ាមីន Trouble shoot problems with the FM method

មាតិកា Content overview

- ការចុះលេខឡាម Labeling of slides
- ការជ្រើសរើសដុំកំហាកសម្រាប់ធ្វើភ្នាស Selecting the best portion of the sample for smear preparation
- បច្ចេកទេសធ្វើភ្នាស Techniques for preparing smears
- គោលការណ៍នៃការបំពាក់ពណ៌អូរ៉ាមីន Principles of the Auramine method
- របៀបបំពាក់ពណ៌ Auramine staining procedure

ជំហាននៃការធ្វើភ្នាសកំហាក Overview of smear preparation

- សរសេរលេខកំប៉ុង និងឡាម Label each container & slide
- ធ្វើភ្នាស Make smear
- ទុកឱ្យស្ងួតក្នុងបរិយាកាសធម្មតា (ដោយខ្យល់) Air dry
- ផ្ទាប់ភ្នាស Heat fix smear

Sputum containers

5

Labeling the container

6

ការចារឈ្មោះដោយដែកចារ Labeling unfrosted slides with diamond pencil

7

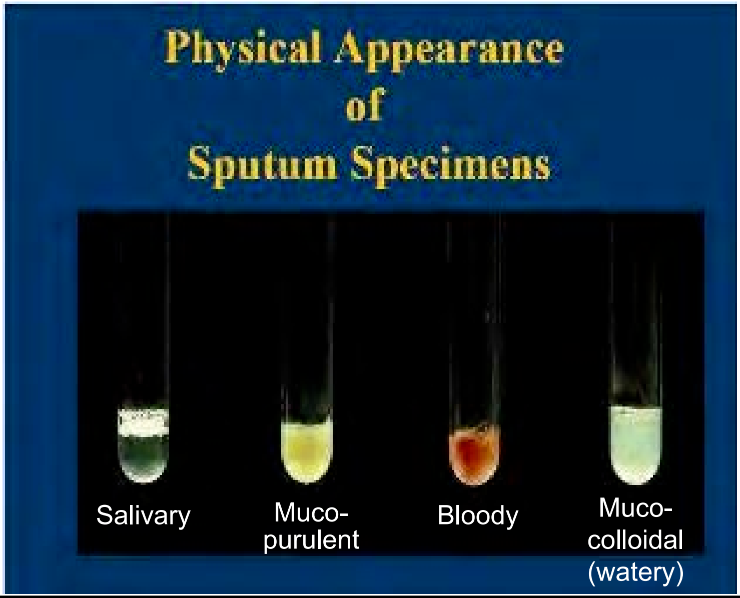
ការចុះលេខដោយខ្មៅដៃ Labeling frosted slides with lead pencil

8

ទិដ្ឋភាពវត្ថុវិភាគ Specimen appearance

9

Specimen appearance cont’d



10

Specimen quality

Salivary

Bloody

Specimen quality cont'd

Mucopurulent

Muco-colloidal
(watery)

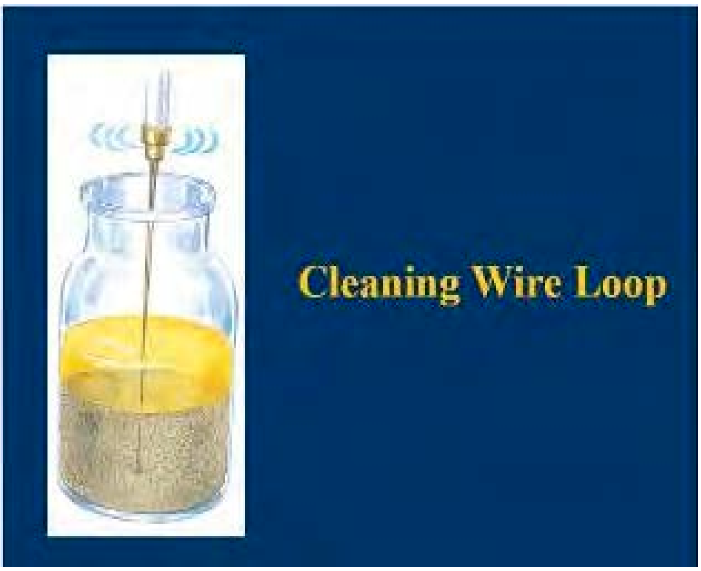
ការធ្វើផ្លាសកំហាក Preparing sputum smears

- ចុះលេខឡាម Numbering the slides
  - —យកឡាមថ្មី ស្អាត គ្មានខ្លាញ់ គ្មានឆ្កូត ហើយមិនមានស្នាមម្រាមដៃ
    Select new, clean, grease-free, unscratched slides which are free from fingerprints
  - —ប្រើខ្មៅដៃ ឬដែកចារ ចុះលេខ និងលេខចំនួនកំហាកនៅចុងឡាម Using a pencil, record the serial number and order number of the sputum specimen on the end of the slide
  - —ធានាថាលេខនៅលើឡាមនិមួយៗ គឺដូចលេខនៅលើកំប៉ុង Ensure that the number on each slide corresponds to the number on the specimen container

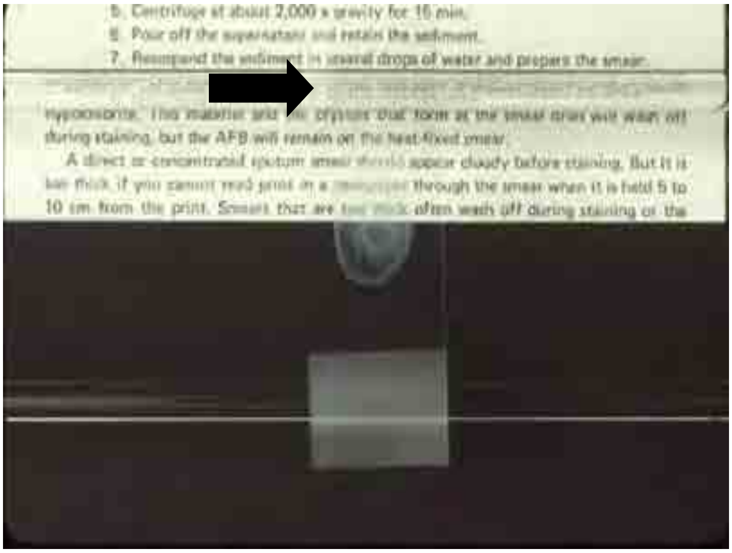
Sputum smearing

Making smear with loop

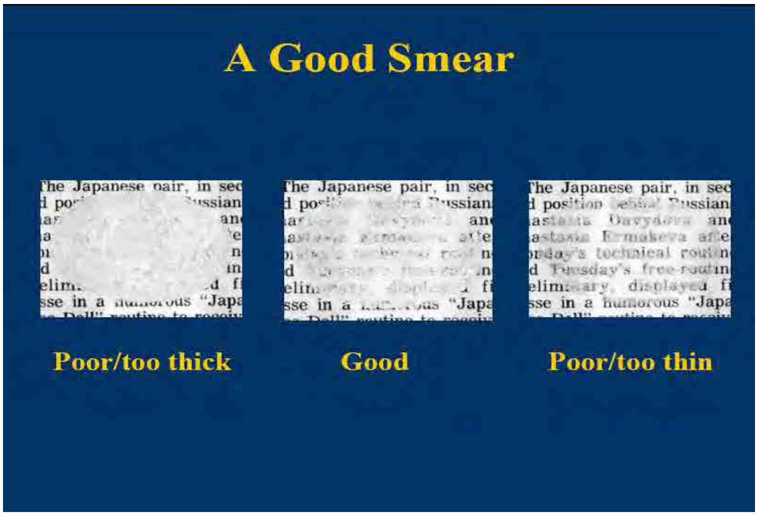
Cleaning loop



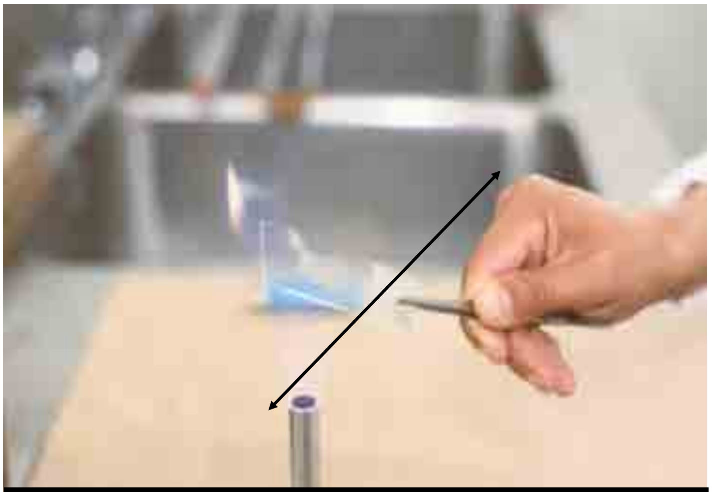
Proper thickness of smear



Proper thickness of smear cont'd



Heat fixing a smear



Pass the smear through the flame 2–3 times

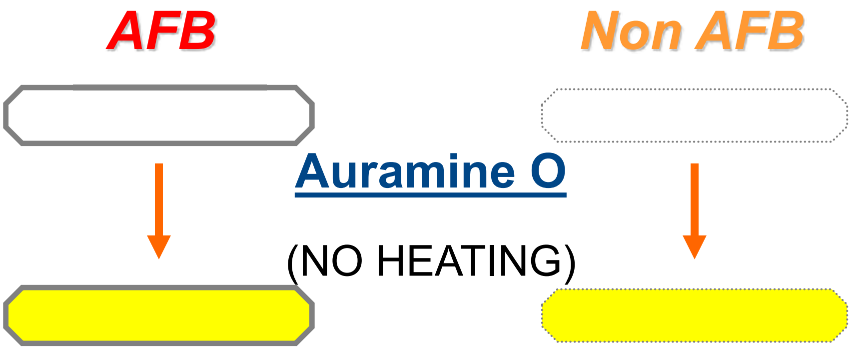
របៀបបំពាក់ពណ៌អូរាមីន Fluorescent staining procedure

- ពណ៌ដំបូង Primary Stain (Auramine O)
- ការបំបាត់បណ៌ Decolorizer (Acid alcohol)
- ការបំពាក់ពណ៌សាឡើងវិញ Quenching (Potassium permanganate)

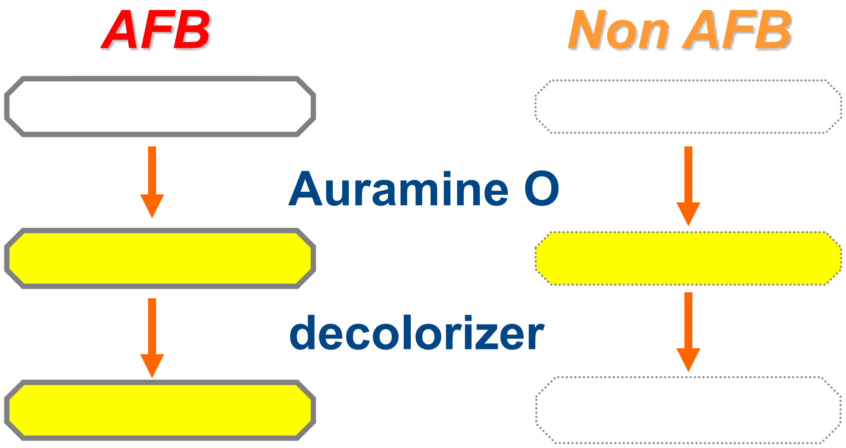
គោលការណ៍នៃការបំពាក់ពណ៌ Acid-fast principles

- អាស៊ីតនុយក្លេអ៊ិចរបស់មេរោគត្រូវបានបំពាក់ដោយពណ៌អូរាមីន ។ The nucleic acids of the cell are stained by Auramine O
- ការបំបាត់ពណ៌ដោយអាស៊ីត-អាល់កុលមិនអាចលប់បំបាត់ពណ៌អូរាមីនពីមេរោគបាន ។ Intense decolorization by acid or alcohol does not release primary stain from the nucleic acid of AFB
- ការរម្ងាប់ពណ៌ត្រូវបានធ្វើដើម្បីបង្ក្រាបពណ៌ផ្លុយអូរ៉េសង់ផ្សេងៗ និងផ្តល់នូវភាពផ្ទុយគ្នានៃផ្ទៃខាងក្រោយ ។ Quenching done to suppress non-specific background fluorescence and provides contrasting background

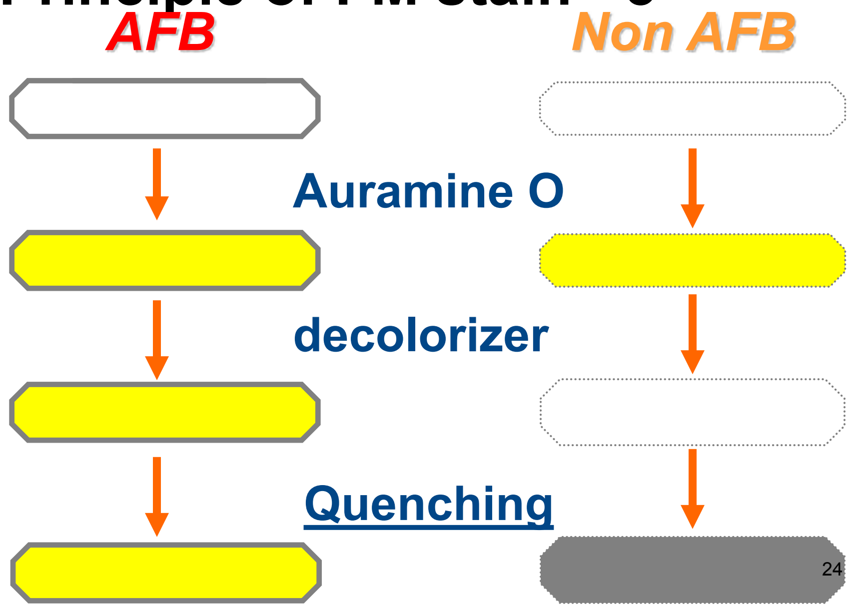
Principle of FM stain - 1



Principle of FM stain - 2



Principle of FM stain - 3



ការបំពាក់ពណ៌

- ដាក់ឡាមតាមលេខរៀងដោយផ្ងាភ្នាសឡើងលើ ។ Arrange slides in serial order, smear side up
- ដាក់ឡាមនិមួយៗឱ្យឃ្លាតពីគ្នាដោយមួយកំរាស់ម្រាមដៃ (យ៉ាងហោចណាស់ មួយសង់ទីម៉ែត្រ) ។ Keep a finger-thickness between smears
- ចាក់ 0,១% អូរាមីនដែលច្រោះរួចលើផ្ទៃឡាម ។ Flood with filtered 0.1% Auramine solution
- កុំកំដៅ Do NOT Heat
- ទុក ២0 នាទី Leave for 20 minutes
- លាងទឹកថ្នមៗ ហើយសម្រកទឹកចោល Gently rinse with water, drain
- ដាក់ល្បាយ 0,៥%អាស៊ីត-អាល់កុល ទុករយៈពេល ៣នាទី Apply decolorizing solution 0.5% Acid alcohol, for 3 min.
- លាងទឹកថ្នមៗ ហើយសម្រកទឹកចោល Rinse, drain
- ដាក់ល្បាយ 0,៥%ប៉ូតាសស្យូម ពែម៉ង់ហ្កាណាត ទុករយៈពេល ១នាទី Apply 0.5% potassium permanganate solution for 1 min.
- លាងទឹកថ្នមៗ ហើយសម្រកទឹកចោល Rinse, drain
- ទុកឱ្យស្ងួតដោយខ្យល់ Air dry

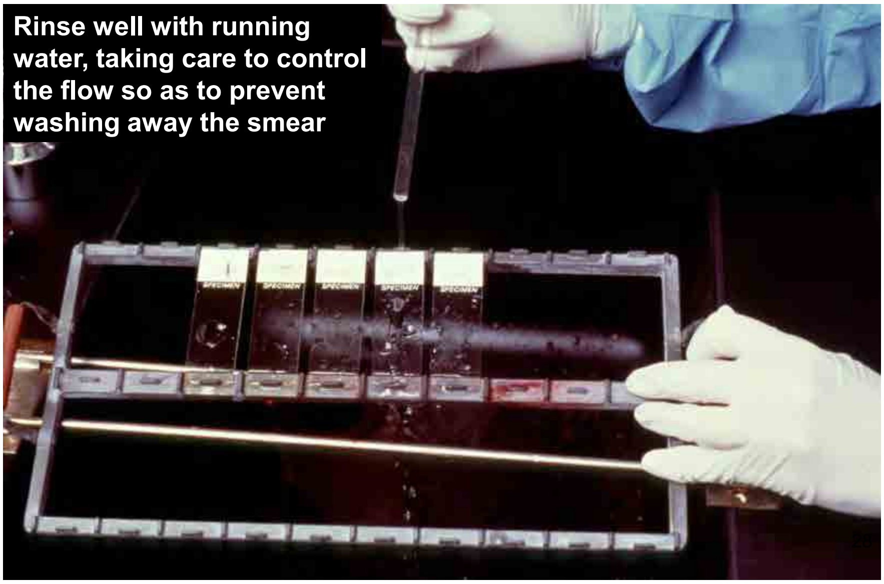
25

Setting up slides on staining rack

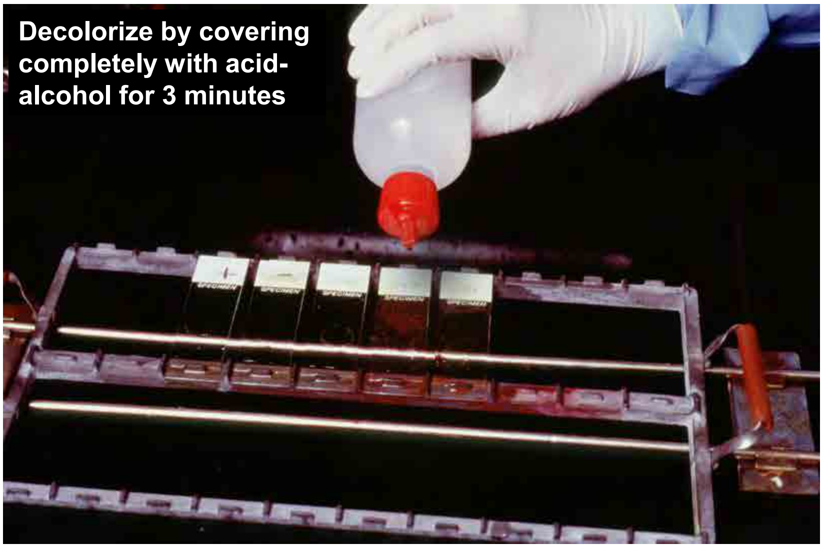
26

Staining

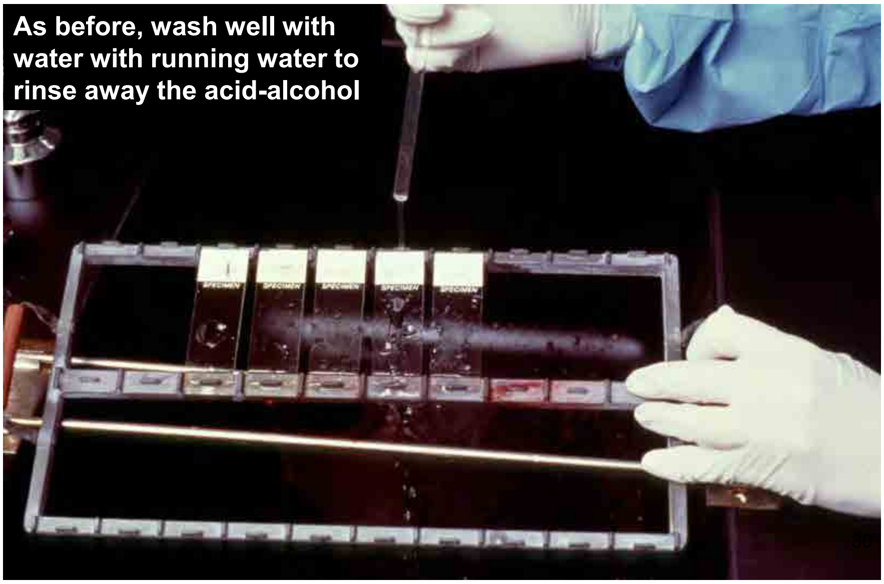
Rinsing



Decolorizing



Rinsing



Quenching

31

Final rinsing

32

ការពិនិត្យគុណភាពនៃការបំពាក់ពណ៌ប្រចាំថ្ងៃ
Quality control of routine staining

- ធ្វើរាល់មណ្ឌលមីក្រូទស្សន៍ទាំងអស់ ។ All labs performing AFB-smear microscopy
- ជាគំនិតរៀងរាល់ថ្ងៃ ប៉ុន្តែអាចមួយសប្តាហ៍ម្តង ។Ideally daily but at least weekly
- ភ្នាសវិជ្ជមាន (1+) Positive control smear (1+)
  - ក្នុងការបំពាក់ពណ៌ប្រចាំថ្ងៃ in routine series for staining
  - ពិនិត្យរកចំនួន និងពណ៌មេរោគរបេង check for the number and color of AFB
- ចុះលទផលក្នុងសៀវភៅ-បញ្ជីមន្ទីរពិសោធន៍ ឬសៀវភៅកំនត់ត្រាការពនិត្យគុណភាពប្រតិករ ។Record results in the laboratory register

សង្ខេប Summary

- តើយើងសរសេរពត៌មានអ្វីនៅលើឡាម? What labelling information is needed on a slide?
- តើអ្នកយកផ្នែកណានៃវត្ថុវិភាគមកធ្វើភ្នាស? How do you select the best portion of the sample for smear preparation?
- តើអ្នកធ្វើដូចម្តេចដើម្បីដឹងថាទំហំ និងកំរាស់ភ្នាសបានល្អ? How can you determine the correct size and thickness of a sputum smear?
- តើជំហានសំខាន់ក្នុងការបំពាក់ពណ៌អូរ៉ាមីនមានអ្វីខ្លះ? What are critical steps in FM staining?

ម៉ូឌុល ១-៣-៤

ការពិនិត្យ កត់ត្រា និង របាយការណ៍អំពីឡាម

Reporting and Recording

មើលឡាម fluorescent

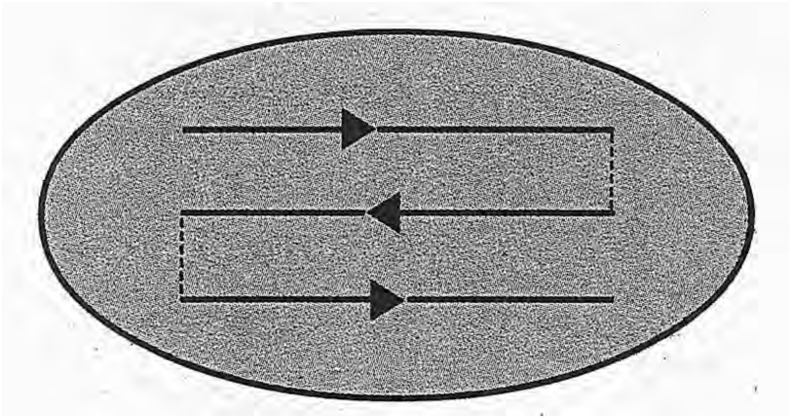
- ទុកឡាមដែលបំពាក់ពណ៌នៅកន្លែងងងឹត(ក្នុងប្រអប់) រហូតដល់ពេលពិនិត្យ និងពិនិត្យមើលអោយបានឆាប់តាមតែអាចធ្វើបាន ។ ប្រើកែវពង្រីកទំហំ (x40) សម្រាប់មើលចុះឡើង ។

  Keep stained smears in the dark (box or folder) until reading, and read as soon as possible. Use the objective x40 for scanning.

- ពិនិត្យមើលតាមប្រព័ន្ធរូបភាព យ៉ាងតិច៤០រូបភាព ។ មេរោគរបេង មើលឃើញ ពណ៌លឿងខ្ចី លើផ្ទៃពណ៌ខ្មៅ ។

  Scan the stained smear systematically at least for 40 high-power fields. Acid-fast bacilli appear bright yellow against a dark background material.

Systematic examination of smears



រូបរាងមេរោគរបេង Appearance of AFB

- បាក់តេរីរបេងមានរាងផ្សេងៗគ្នា ដូចជារាងកំណាត់យ៉ាងខ្លីៗរហូតដល់ប្រភេទវែង ។ បាក់តេរីរបេងអាចចាប់ពណ៌ដូចគ្នា ដែលអាចនៅមួយៗដាច់ពីគ្នា ឬអាចនៅផ្តុំគ្នា ។ Tubercule bacilli are quite variable in shape, from very short fragments to more elongated forms. They may be uniformly stained, with one or many gaps, or may even be granular in appearance ។
- យើងតែងតែឃើញវាជាលក្ខណៈមួយៗ ឬជាក្រុមតូចៗ ហើយកម្រឃើញជាក្នុងក្រុមធំៗ ។ រូបរាង បាក់តេរីរបេង គឺមានរាងជា កំណាត់វែង ស្តើង និងកោងបន្តិច ។ They occur singly or in small groups, and only rarely in large clumps. The typical appearance of bacilli is that they resemble rather long, slender and slightly curved rods.
- ការបំពាក់ពណ៌ល្អ (តែងតែត្រូវពិនិត្យមើលឡាមកុងត្រូលវិជ្ជមានមុន) ពេលខ្លះអាចមានកំទេចកំទីនៅទីនោះ (ជួនកាលមានពណ៌បៃតង) ដែលអត់មាន រាងដូចបាក់តេរីរបេង ។ ម្យ៉ាងទៀត រាងបាក់តេរី ដែលអត់មានពណ៌ត្រូវគិតថា វាមិនមែនជាមេរោគរបេងដែរ ។ With good staining (always check first a freshly stained positive control), there may still be fluorescing (sometimes green) artifacts, which do not have the typical shape. Also non-fluorescing bacilliary shapes must be considered as artifacts.

Appearance of AFB cont'd

ការឲ្យលទ្ធផល Grading scale using 40x objectives

លទ្ធផល	មេរោគដែលបានរកឃើញ
អវិជ្ជមាន	គ្មានឃើញមេរោគក្នុង៤០រូបភាព
ចំនួនពិតប្រាកដ	១-១៩ ក្នុង៤០រូបភាព
(1+)	២០-១៩៩ មេរោគក្នុង៤០រូបភាព
(2+)	៥-៤៩ មេរោគក្នុង១រូបភាព យ៉ាងហោចណាស់ ២០ រូបភាព
(3+)	ច្រើនជាង ៥០ មេរោគក្នុង១រូបភាព យ៉ាងហោចណាស់ ៨ រូបភាព

Laboratory record keeping

- Laboratory Request Form
- Microscopy Report Forms
- Laboratory Register

All laboratory records should be kept for at least two years

ការប្រើប្រាស់ក្រឡាផ្តល់ពិន្ទុ Using a grading chart

- ប្រើក្រឡាផ្តល់ពិន្ទុ Use grading chart every time you read a smear
- វាជាក្រឡា ១០×១០ ប៉ុន្តែអ្នកប្រើវាតែ៤០ប្រឡោះប៉ុណ្ណោះ It is a 10 x 10 chart, but you need to use only a maximum of 40 fields for 40x objective to grade your results
- សរសេរចំនួនមេរោគនៅក្នុងប្រឡោះនិមួយៗ Record the number of bacilli in each field
- បូកសរុបចំនួនមេរោគ ក្នុង៨/២០/៤០ រូបភាព Calculate the number of bacilli per 8/ 20/ 40 fields for 40x FM objective, depending on the magnification of the objectives used

ឧទាហរណ៍ Example - 40x

- FM microscopy, 40 x objective

- បើចំនួនមេរោគរបេង តិចជាង៤00 ក្នុង៨ រូបភាព រាប់១២ រូបភាពទៀត ។ បើបន្ទាប់ពី២0 រូពភាព ចំនួនមេរោគ នៅចន្លោះ១00-១000 ត្រូវសរសេរ 2+ ។ បើច្រើនជាង ១000 ត្រូវសរសេរ 3+ ។

- បើចំនួនមេរោគរបេង តិចជាង២0 ក្នុង២0 រូបភាព ត្រូវរាប់២0 រូបភាពទៀត ។ បើបន្ទាប់ពី៤0 រូពភាព ចំនួនមេរោគ នៅចន្លោះ២0-១៩៩ ត្រូវសរសេរ 1+ ។ បើចំនួន នៅចន្លោះ១-១៩ ត្រូវសរសេរចំនួនពិតប្រាកដ ។

អវិជ្ជមានមិនពិត និងផលវិបាក

False negatives and consequences

- **អវិជ្ជមានមិនពិត មានន័យថាលទ្ធផលដែលបានផ្តល់ឱ្យអវិជ្ជមាន គឺតាមពិតវិជ្ជមាន**
  False-negative means that the result that was reported negative was actually positive

- **ដូច្នេះអ្នកជំងឺដែលមានបេរោគរបេង មិនបានទទួលការព្យាបាល ដែលបណ្តាលឱ្យជំងឺ កាន់តែបន្ត ដែលអាចឆ្លងទៅគេ ឬស្លាប់** Therefore, patients with TB may not be treated, resulting in ongoing disease, disease transmission, or death.

- **ការព្យាបាលក្នុងដំណាក់កាលសម្រុកមិនបានបន្ត ជាលទផលធ្វើឱ្យការព្យាបាល មិនគ្រប់គ្រាន់ និងជាមូលហេតុធ្វើឱ្យមានការសាំុថ្នាំ** Intensive phase treatment may not be extended, resulting in inadequate treatment and potential drug resistance

វិជ្ជមានមិនពិត និងផលវិបាក

False negatives and consequences

- វិជ្ជមានមិនពិត មានន័យថាលទ្ធផលដែលបានផ្តល់ឱ្យវិជ្ជមាន គឺតាមពិតអវិជ្ជមាន ។ False-positive means that the result that was reported positive was actually negative
- ដូច្នេះអ្នកជំងឺដែលគ្មានមេរោគរបេង ទទួលការព្យាបាលដោយមិនចាំបាច់ ហើយការព្យាបាលអាចបន្តយូរជាងតម្រូវការ ។ Therefore, patients are treated unnecessarily, and treatment may be continued longer than necessary
- ធ្វើឱ្យខាតបង់ថ្នាំ ។ Medications will be wasted

ការពារមីក្រូទស្សន៍ Protect the microscope

- សំណើមនិងធូលីធ្វើឱ្យមីក្រូទស្សន៍ខូច ។ Humidity and dust damage microscopes.
- នៅពេលអាកាសធាតុសើម ត្រូវការពារមីក្រូទស្សន៍ពីការដុះផ្សិត ។ In humid climates, the microscope needs to be protected from fungus.
- ពេលអត់ប្រើមីក្រូទស្សន៍ត្រូវយកក្រណាត់គ្របវា ។ Cover the microscope when not in use with a vinyl or cotton cloth.

សង្ខេប Summary

- តើឃើញមេរោគប៉ុន្មានទើបឱ្យលទផល 1+, 2+ and 3+ .
- តើយើងត្រូវមើលប៉ុន្មានរូបភាព?
- តើមានផលវិបាកអ្វីចំពោះការផ្តល់លទផល វិជ្ជមានមិនពិត? អវិជ្ជមានមិនពិត?

ម៉ូឌុល ១-៤ ការវាយតំលៃ (Evaluation)

ម៉ូឌុល ១-៤-១ ការវាយតំលៃអ្នកចូលរួម ដោយការធ្វើ Pre និង Post-test

ម៉ូឌុល ១-៤-២ ការវាយតំលៃវគ្គបណ្តុះបណ្តាល

ម៉ូឌុល ១-៤-៣ កំរងសំណួរសំរាប់អ្នកចូលរួម

វគ្គបណ្តុះបណ្តាលស្តីពីការពិនិត្យរកមេរោគរបេងដោយមីក្រូទស្សន៍ផ្លុយអូរ៉េសង់

តេស្តសាកល្បង

កាលបរិច្ឆេទ:.....................................

ឈ្មោះ:... ឈ្មោះមន្ទីរពិសោធន៍.................................. ខេត្ត.................................

សូមឆ្លើយនឹងសំនួរដោយគ្រាន់តែជ្រើសរើសយកចំលើយ **ត្រូវ** ឬ **ខុស**

១. មន្ទីរពិសោធន៍មានតួនាទីយ៉ាងសំខាន់ក្នុងការងាររកចំចាត់រោគរបេង។ ☐ត្រូវ ☐ខុស

២. ភ្នាសកំហាក ត្រូវធ្វើនៅកន្លែងងងឹត ដែលមិនធ្វើអោយប៉ះពាល់ និងឆ្លងមេរោគដល់អ្នកដ៏ទៃ។ ☐ត្រូវ ☐ខុស

៣. កំហាកមានគុណភាពល្អ គឺកំហាកដែលមានដុំខ្ទុះពណ៌លឿង។ ☐ត្រូវ ☐ខុស

៤. ត្រូវបិទ ឬសរសេរលេខមន្ទីរពិសោធន៍នៅលើគំរបកំប៉ុងកំហាក។ ☐ត្រូវ ☐ខុស

៥. អ្នកត្រូវរង់ចាំរហូតដល់៥នាទី បន្ទាប់ពីពេលកំដៅភ្នាសកំហាកដែលមានប្រតិករអូរ៉ាមីនអូ។ ☐ត្រូវ ☐ខុស

៦. ត្រូវប្រើអាស៊ីតអាល់កុល 0.៥% សំរាប់បំបាត់ពណ៌អូរ៉ាមីនអូ។ ☐ត្រូវ ☐ខុស

៧. កំរាស់ភ្នាស និងទំហំភ្នាសកំហាកមិនជាប់ទាក់ទងនិងមិនមានឥទ្ធិពលដល់ការអោយលទ្ធផលកំហាកឡើយ។

☐ត្រូវ ☐ខុស

៨. រយៈពេលប្រើប្រាស់របស់អំពូលមីក្រូទស្សន៍ LED គឺ១៥0 000ម៉ោង។ ☐ត្រូវ ☐ខុស

៩. ត្រូវប្រើប្រាស់ Objective លេខ១00 សំរាប់មីក្រូទស្សន៍ផ្លុយអូរ៉េសង់សំរាប់ពិនិត្យរកមេរោគ។ ☐ត្រូវ ☐ខុស

១0. ចូររៀបរាប់ពីកំរិតនៃការចុះលទ្ធផលរបស់មីក្រូទស្សន៍ផ្លុយអូរ៉េសង់:

- អវិជ្ជមាន :
- ចំនួនBar :
- 1+ :
- 2+ :
- 3+ :

ម៉ូឌុល ១-៤-២ ការវាយតំលៃវគ្គបណ្តុះបណ្តាល

កាលបរិច្ឆេទ :..

ឈ្មោះ :..

1) តើមាតិកានៃវគ្គបណ្តុះបណ្តាលយ៉ាងដូចម្តេចដែរ? (ល្អណាស់, ល្អ, សមរម្យ, ខ្សោយ, ខ្សោយណាស់)

2) តើសំភារៈបង្ហាញ និង សំភារៈបង្រៀនមានលក្ខណៈយ៉ាងដូចម្តេចដែរ?
(ល្អណាស់, ល្អ, សមរម្យ, ខ្សោយ, ខ្សោយណាស់)

3) តើអ្នកគិតយ៉ាងដូចម្តេចអំពីរបៀបនៃការបង្រៀនរបស់យើង ? (មេរៀន, ការអនុវត្តន៍ និង ការពិភាក្សា)
(ល្អណាស់, ល្អ, សមរម្យ, ខ្សោយ, ខ្សោយណាស់)

4) តើអ្នកគិតដូចម្តេចចំពោះការបែងចែកពេលវេលាបង្រៀន?
(ល្អណាស់, ល្អ, សមរម្យ, ខ្សោយ, ខ្សោយណាស់)

5) តើអ្នកគិតដូចម្តេចចំពោះការរៀបចំបន្ទប់នៃវគ្គបណ្តុះបណ្តាល ?
(ល្អណាស់, ល្អ, សមរម្យ, ខ្សោយ, ខ្សោយណាស់))

6) ប្រសិនបើអ្នកមានមតិយោបល់ សូមសរសេរ

សូមអរគុណ

ម៉ូឌុល ១-៤-៣ កំរងសំនួរសំរាប់អ្នកចូលរួម

ឈ្មោះ : ....

ខេត្ត : ....

តួនាទី : ( ) អ្នកអភិបាលមន្ទីរពិសោធន៍របេងខេត្ត

( ) អ្នកត្រួតពិនិត្យលើការពិនិត្យគុណភាពឡាមសារឡើងវិញ

( ) អ្នកបច្ចេកទេសមន្ទីរពិសោធន៍ G1

( ) អ្នកបច្ចេកទេសមន្ទីរពិសោធន៍ G2

1-1) តើអ្នកធ្វើការជា អ្នកបច្ចេកទេសមន្ទីរពិសោធន៍អស់រយះពេលប៉ុន្មាន?

______________ ឆ្នាំ / ខែ

1-2) តើអ្នកធ្លាប់មានបទពិសោធន៍នៃការពិនិត្យមីក្រូទស្សន៍របេងដោយវិធី ZN រយះពេលប៉ុន្មាន?

______________ ឆ្នាំ / ខែ

1-3) ប្រសិនបើអ្នកជាអ្នកត្រួតពិនិត្យ តើអ្នកធ្លាប់មានបទពិសោធន៍នៃការត្រួតពិនិត្យរយះពេលប៉ុន្មាន?

______________ ឆ្នាំ / ខែ

1-4) ប្រសិនបើអ្នកជាអ្នកអភិបាលមន្ទីរពិសោធន៍របេងខេត្ត តើអ្នកធ្លាប់មានបទពិសោធន៍នៃការអភិបាលរបេងរយះពេលប៉ុន្មាន?

______________ ឆ្នាំ / ខែ

2-1) លទ្ធផលពេញមួយឆ្នាំចុងក្រោយ

( ) គ្មានកំហុសត្រូវបានរកឃើញពេញមួយឆ្នាំចុងក្រោយ

( ) កំហុសតូច ១ ( ) កំហុស ២ តូច ឬ ច្រើន

( ) កំហុសធំ ១ ( ) កំហុស ២ ធំ ឬ ច្រើន

( ) មិនដឹង ( ) ភ្លេច

( ) អ្នកជាអ្នកវាយតំលៃ

ឧបត្ថម្ភការបោះពុម្ពដោយៈ

CENAT/JICA National TB Control Project

ម៉ូឌុលនេះត្រូវបានយកប្រែដោយអង្គការ CENAT/JICA NATIONAL TB CONTROL PROJECT
និងសហការជាមួយ មជ្ឈមណ្ឌលជាតិកំចាត់រោគរបេង និងហង់សិន