



แผนกพยาธิวิทยา
โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง

การตรวจ Prothrombin time (PT)

WI-LAB-044
แก้ไขครั้งที่ 03

ผู้จัดทำ

ร.ท.หญิง

(อรกัญญา ทรงทอง)

ผู้จัดการวิชาการสาขาโลหิตวิทยาคลินิก

1 กุมภาพันธ์ 2566

ผู้ทบทวน

(อัญชิษฐา โยธาจันทร์)

ผู้จัดการวิชาการสาขาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก

1 กุมภาพันธ์ 2566

ผู้อนุมัติ

พ.อ.

(ฉัตรมงคล คนขยัน)

หัวหน้าห้องปฏิบัติการ

1 กุมภาพันธ์ 2566

วันที่ประกาศใช้: 1 กุมภาพันธ์ 2566



1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ (purpose of examination)

- 1.1 เพื่อตรวจหาสาเหตุของเลือดออกง่าย หรือมีจ้ำเลือด
- 1.2 ประเมินความผิดปกติในระบบการแข็งตัวของเลือดใน extrinsic และ common pathway ได้แก่ factor X, VII, V, II, fibrinogen
- 1.3 ผู้ป่วยที่ได้รับ ยากันเลือดแข็งชนิดรับประทาน warfarin
- 1.4 ประเมิน synthetic function ของตับ

2. หลักการและวิธีการของขั้นตอนที่ใช้สำหรับการทดสอบ (principle and method of procedure used for examinations)

การตรวจวัดการแข็งตัวของเลือด (PT) โดยเครื่อง CA-50 จะใช้วิธีการวัดการกระเจิงของแสง (Scatter Light Detection Method) ที่จุดการเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ (End Point) ใช้ความยาวคลื่นที่ 660 nm ช่องตรวจวัดจะประกอบด้วยแหล่งกำเนิดแสง (Light-emitting diode, LED) ซึ่งจะส่องแสงผ่าน Reaction tube ที่มีน้ำยาผสมกับ plasma คนไข้ และ Detector จะเป็นตัวตรวจวัดแสงที่กระเจิงออกมาซึ่งความเข้มแสงนี้จะมากขึ้นตามความข้นก่อน clot และเมื่อปฏิกิริยาการสร้างก้อน clot สมบูรณ์แล้ว ความเข้มแสงก็จะคงที่ เครื่องจะเก็บข้อมูลการเปลี่ยนแปลงความเข้มแสงนี้นำมาคำนวณและแสดงผลเป็นเวลาที่หมดในการเกิดก้อน clot ที่สมบูรณ์

3. ลักษณะทางประสิทธิภาพ (performance characteristics)

Performance Characteristics

Precision

The precision of the PT determination is highly dependent on the method used. The precision of Thromborel® S Reagent on the BCT® System was estimated by assaying normal and pathological control plasmas over a five day period, one run per day in replicates of eight. In a study the within-run precision ranged from 0.7 % to 1.2 %, and the inter-assay precision ranged from 1.5 % to 2.2 %.


Method Comparison

A comparison of Thromborel® S Reagent with the British Comparative Thromboplastin yielded a correlation coefficient of 0.979, with good numerical agreement of the values in percent of norm¹³.

4. ชนิดตัวอย่าง (type of sample) : Plasma

5. การเตรียมผู้ป่วย (patient preparation) : ไม่มี

6. ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่ง (type of container and additives) : 3.2% Sodium Citrate tube

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Prothrombin time (PT)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-044	หน้า 2 จาก หน้า 7
แก้ไขครั้งที่ : 03	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

7. เครื่องมืออุปกรณ์ที่จำเป็นและสารเคมี (required equipment and reagents)

- 7.1 เครื่องวัดการแข็งตัวของเลือด รุ่น CA-50 ผลิตภัณฑ์ Sysmex ประเทศญี่ปุ่น
- 7.2 Automatic pipette 50 μ l, 100 μ l
- 7.3 Reaction tube (Cuvette)
- 7.4 น้ำยาทดสอบ Thromborel[®]S

8. สิ่งแวดล้อมและการควบคุมความปลอดภัย (environmental and safety controls)

- 8.1 ต้องสวมถุงมือยางและเสื้อคลุมขณะปฏิบัติงานเพื่อป้องกันการติดเชื้อบางชนิดที่อาจปนเปื้อนมากับตัวอย่างตรวจ
- 8.2 น้ำยามีส่วนผสมของสารอันตรายบางส่วนประกอบของน้ำยาไม่ควรกลืนกินหรือสัมผัสกับผิวหนังโดยตรง

9. ขั้นตอนการสอบเทียบ (calibration procedures)

มีการสอบเทียบเครื่องมือตามรอบ maintenance ของเครื่องโดยช่างประจำเครื่องปีละ 1 ครั้ง

10. ขั้นตอนของกระบวนการ (procedural steps)

10.1 เตรียมน้ำยา (reagent preparation)

Thromborel S (สำหรับตรวจ PT)

10.1.1 เป็นผง Lyophilized (human placental thromboplastin)

10.1.1.1 กรณีที่ยังไม่ได้เปิดใช้เก็บไว้ที่ 2-8 องศาเซลเซียส วันหมดอายุตามข้างขวดน้ำยา

10.1.2 ละลายด้วยน้ำกลั่น 4 ml. mix แบบ Invert 8-10 ครั้ง และ Incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที (หลังจากครบเวลาสามารถนำมาใช้ได้ทันที)

10.1.2.1 ความคงตัวหลังจากเปิดใช้งานแล้ว

ที่ 37 องศาเซลเซียส ความคงตัว 8 ชั่วโมง

ที่ 15 – 25 องศาเซลเซียส ความคงตัว 2 วัน

ที่ 2 – 8 องศาเซลเซียส ความคงตัว 5 วัน

10.2 การเตรียมตัวอย่างตรวจ

10.2.1 ใช้สารกันเลือดแข็ง 3.2% Sodium Citrate Solution 1 ส่วนผสมเลือดคนไข้ 9 ส่วน ทำการผสมให้เข้ากันดี

10.2.2 ปั่นแยก plasma ด้วยความเร็วรอบ 1500 g , 15 นาที

10.2.3 นำ plasma ที่ได้ทำการทดสอบในเครื่อง

10.3 ขั้นตอนการทดสอบ

10.3.1 เปิดเครื่องที่ปุ่มเปิด-ปิดด้านขวา เครื่องจะตรวจสอบตัวเอง (Self test) ก่อน ถ้าไม่พบความ

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด



ผิดพลาดใด ๆ จะขึ้นคำว่า “OK” และ Print Out

10.3.2 เครื่องจะ Warm-up โดยใช้เวลา 5-30 นาที เพื่อให้อุณหภูมิของ Detector Channel และ Incubator ได้ตามที่ตั้งไว้ คือ 37 ± 0.5 °C และ 37 ± 1 °C ตามลำดับ

10.3.3 เมื่อเครื่องพร้อมทำงาน หน้าจอจะแสดง Parameter ของแต่ละช่องตรวจวัด (Detector Channel) ดังตัวอย่าง

ch3	PTT	ch4
ch1	PT	ch2

10.3.4 เตรียมน้ำยาที่จะทำการทดสอบ

Thromborel S ที่ละลายแล้วและน้ำยาอื่น ๆ จะต้องวางใน Incubator ก่อนอย่างน้อย 10 นาที

10.3.5 ใส่ ID No. คนไข้ โดย

10.3.5.1 กด Select หน้าจอเข้า Main Menu

10.3.5.2 กด 2 หน้าจอจะให้เลือก ช่องตรวจวัด (Detector) 1, 2, 3, หรือ 4 – กดเลือก

10.3.5.3 กด Enter หน้าจอจะให้ใส่ ID No. คนไข้ - พิมพ์ ID No. คนไข้

10.3.5.4 กด Enter, กด Select เพื่อออกมาหน้าจอปกติ

10.3.6 ดูด Sample ลงใน Reaction tube ตามปริมาณที่ใช้แต่ละ test (ดังตาราง)

ปริมาณ Plasma และ Reagent ที่ใช้ทดสอบในแต่ละ test

Parameter	Reagent	Consumption/Test
PT	Citrate plasma	50 μ l
	Thromborel S	100 μ l


และวางใน Detector ที่เลือกไว้ข้างต้น, กด Start ที่ Channel นั้น >> LED ของ Detector จะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีแดง >> หน้าจอจะแสดงเวลานับถอยหลังในการ incubate ก่อนครบเวลา incubate 5 วินาที จะมีเสียงสัญญาณเตือนเพื่อใส่ Reagent **PT** : ปิดฝาทันที เมื่อเติม Thromborel S แล้ว เมื่อปฏิกิริยาการแข็งตัวของเลือดสิ้นสุดแล้ว หน้าจอจะแสดงผล และ Print ผลออกมา

11. ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพ (quality control procedures)

11.1 เตรียมน้ำยาควบคุมคุณภาพ (Quality control preparation)

11.1.1 Control Plasma N

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Prothrombin time (PT)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-044	หน้า 4 จาก หน้า 7
	แก้ไขครั้งที่ : 03	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

11.1.1.1 เป็นผง Lyophilized

11.1.1.2 เอาออกมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที

11.1.1.3 ละลายด้วยน้ำกลั่น 1 ml. วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที

11.1.1.4 mix แบบ invert 5-10 ครั้งก่อนนำมาใช้

11.1.1.5 ความคงตัว 15 – 25 °c : 4 ชั่วโมง
≤ -20 °c : 4 สัปดาห์

11.1.2 Control Citrol 2

11.1.2.1 เป็นผง Lyophilized

11.1.2.2 เอาออกมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที

11.1.2.3 ละลายด้วยน้ำกลั่น 1 ml. วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที

11.1.2.4 mix แบบ invert 5-10 ครั้งก่อนนำมาใช้

11.1.2.5 ความคงตัว 15 – 25 °c : 8 ชั่วโมง
2 - 8°c : 16 ชั่วโมง

11.2 การทำ Internal Quality control

ในการรัน Control จะทำการรันในวันที่มี Test คนไข้ โดยจะรัน Control ก่อนการรัน Test คนไข้รายแรกของวันโดยใช้ control 2 level ได้แก่ Control Plasma N และ Control Citrol 2 และมีการบันทึกการทำ IQC ลงในแบบบันทึกผลการควบคุมคุณภาพภายในการทดสอบ PT/PTT (FM-LAB-310)

11.3 การอ่านผล Internal Quality control


11.3.1 Control N : ดูค่าจาก leflet น้ำยา control N (ตาม Lot น้ำยาที่ใช้) โดยใช้ตาราง system independent values expect for the systems mentioned before ! (อ้างอิงจากเอกสารกำกับน้ำยา control N)

PT : Thromborel®S

11.3.2 Dade®Ci-Trol®2 : ดูค่าจาก leflet น้ำยา Ci-trol 2 (ตาม Lot น้ำยาที่ใช้) โดยใช้ตาราง Sysmex®CA/CS (อ้างอิงจากเอกสารกำกับน้ำยา Dade®Ci-Trol®2)

PT : Thromborel®S

11.4 เมื่อผล IQC ไม่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (out of control) จะต้องมีการหาสาเหตุและดำเนินการแก้ไขให้เรียบร้อยก่อนที่จะมีการตรวจวิเคราะห์คนไข้ และต้องมีการบันทึกการแก้ไขในแบบบันทึกการแก้ไข เมื่อผล IQC ไม่อยู่ในเกณฑ์ (FM-LAB-025) เพื่อป้องกันการเกิดซ้ำ

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สระรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Prothrombin time (PT)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-044	หน้า 5 จาก หน้า 7
แก้ไขครั้งที่ : 03	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

12. ขั้นตอนการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ (Inter-laboratory comparisons)

- 12.1 โครงการ Thailand National External Quality Assessment Scheme for Blood Coagulation (Thailand NEQAS) ปีละ 3 ครั้ง
- 12.2 เมื่อผลประเมินไม่เป็นไปตามเกณฑ์หรือเป้าหมายที่กำหนด ให้บันทึกมาตรการแก้ไข/ป้องกัน ในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล EQA อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-020)

13. สิ่งรบกวน (interferences)

- 13.1.1 เจาะเลือดปริมาตรไม่เหมาะสม
- 13.1.2 สิ่งส่งตรวจที่ปนเปื้อน heparin ความเข้มข้นมากกว่า 0.6 U/mL อาจทำให้ผลที่ได้ผิดปกติ
- 13.1.3 inhibitors ในกลุ่ม Lupus anticoagulant มีผลต่อการตรวจวัด Prothrombin time
- 13.1.4 สิ่งส่งตรวจที่ hemolysis , Lipemic , Icteric , parenteral feeding (คนไข้ที่ให้อาหารทางหลอดเลือด) มีผลรบกวนการตรวจวิเคราะห์
- 13.1.5 คนไข้ที่ได้รับการรักษาด้วยยาในกลุ่ม Lipoglycopeptide antibacterial drugs อาจมีผลรบกวนการตรวจ PT
- 13.1.6 Hirudin หรือ ยาในกลุ่ม Direct thrombin inhibitors ที่ระดับการรักษา (therapeutic dose) อาจส่งผลให้ค่า Prothrombin time ที่ตรวจวัดได้มีค่า Prolong
- 13.1.7 คนไข้ที่มีภาวะ Dysfibrinogenemia
- 13.1.8 สารที่ใช้เพิ่มปริมาตรเลือด ได้แก่ Hydroxyethyl starch (HES) solution มีผลรบกวนการตรวจวิเคราะห์
- 13.1.9 คนไข้ที่มีค่า Hematocrit > 55 % (จะต้องมีการคำนวณเพื่อลดปริมาณสารกันเลือดแข็ง)
- 13.1.10 คนไข้ที่ได้รับการรักษาด้วย Estrogen therapy

14. หลักการของของขั้นตอนการคำนวณเพื่อให้ได้ผลลัพธ์ รวมทั้งที่เกี่ยวข้องกับความไม่แน่นอนของการวัด (principle of procedure for calculating results including, where relevant, the measurement uncertainty of measured quantity values)


เครื่องจะทำการคำนวณค่าตามหน่วยที่ตั้งไว้เป็นวินาที, Ratio, INR หรือ % Activity

$$\text{INR} = (\text{PT Ratio})^{\text{ISI}}$$

$$\text{PT Ratio} = \frac{\text{PT Sample (sec)}}{\text{ค่าปกติเฉลี่ย PT (sec)}}$$

โดยค่าปกติเฉลี่ยจะหาได้จากค่าของคนสุขภาพดี (good health) อย่างน้อย 30 ราย ควรเก็บตัวอย่างทั้งเพศชายและเพศหญิงในจำนวนเท่าๆกัน แล้วนำมาคำนวณหาค่า normal range โดยใช้ Geomean ในการหา mean , SD (SD-LAB-137)

หมายเหตุ : จะต้องหา normal range ทุกครั้งที่มีการเปลี่ยน lot น้ำยา

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายเกษมส์สระรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Prothrombin time (PT)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-044	หน้า 6 จาก หน้า 7
แก้ไขครั้งที่ : 03	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

15. ช่วงอ้างอิงทางชีวภาพหรือค่าการตัดสินใจทางคลินิก (biological reference intervals or clinical decision values)

Prothrombin time (PT) : 10.1 – 13.3 second

PT – INR : 0.85 – 1.15


หมายเหตุ : ค่าปกติอาจมีการเปลี่ยนแปลงตาม Lot น้ำยา

16. ช่วงที่รายงานผลการทดสอบได้ (reportable interval of examination results)

PT : 7 – 180 วินาที

17. คำแนะนำสำหรับการพิจารณาผลเชิงปริมาณเมื่อผลไม่ได้อยู่ในช่วงการวัด (instructions for determining quantitative results when a result is not within the measurement interval)

Error	การแก้ไข
No Coagulation	Coagulation was not detect -Repeated และรายงานผล PT หรือ APTT > detection time (> 180 วินาที) -ตรวจสอบ reaction tube หลังจากการวัดจะไม่พบการ Clot
Coagulation curve error	Coagulation curve error -ตรวจสอบดูก่อนว่ามีการ Clot มาก่อนหรือไม่ -Repeat และให้ดูผลจากหน้าจอ (การทำซ้ำค่าไม่ควรต่างกัน > 10%) เครื่องจะไม่แสดงผลในใบ print
Slight coagulation	Detected coagulation reaction is very weak เป็นได้ทั้งจากคนไข้และจากสิ่งส่งตรวจ -ให้ mix sample แล้วนำไปปั่นใหม่ ☺ ถ้าผลต่างกันเกิน 10 % แสดงว่าเป็นที่ Sample จะต้องขอเจาะใหม่ ☺ ถ้าผลต่างกันไม่เกิน 10 % แสดงว่าเป็นที่คนไข้ (คนไข้ที่เป็น low fibrinogen) สามารถออกผลได้
Analysis time over	Coagulation was not completed within the prescribed detection time -ตรวจสอบดูก่อนว่ามีการ Clot มาก่อนหรือไม่ - Repeated และรายงานผล PT หรือ APTT > detection time (> 180 วินาที)
Range over	Result exceed analysis range (ค่าที่ได้สั้นกว่าที่เครื่องวัดได้) - เจาะใหม่ทุกกรณี

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สวรรค์	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Prothrombin time (PT)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-044	หน้า 7 จาก หน้า 7
	แก้ไขครั้งที่ : 03	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

18. ค่าวิกฤติ/ค่าแจ้งเตือนที่เหมาะสม (alert/critical values, where appropriate)

Prothrombin time (PT) > 36 second

PT – INR > 3.0

19. การแปลผลทางคลินิกของห้องปฏิบัติการ (laboratory clinical interpretation)

ค่า PT	ค่า APTT	COMMON CONDITION PRESENT
Prolonged	Normal	-FVII deficiency (including its inhibitor) - early oral anticoagulant - early vitamin K deficiency - liver disease
Normal	Prolonged	-deficiency of intrinsic pathway coagulation factors (FVIII , FIX , FXI , FXII , prekallikrien , HMWK) - Inhibitor : FVIII inhibitor, Lupus anticoagulant - von Willibrand's disease
Prolonged	Prolonged	-deficiency of common pathway coagulation factors (FV , FX , prothrombin , and fibrinogen) - warfarin therapy : reduced FVII , FX and FII - vitamin K deficiency - liver disease , ภาวะ DIC

20. แหล่งที่มาของค่าแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้น (potential sources of variation)

ตรวจวิเคราะห์ภายในเวลาที่กำหนด

- PT ควรตรวจวิเคราะห์ภายใน 24 ชั่วโมง

21. เอกสารอ้างอิง (references)

20.1 ใบแทรกน้ำยา Thromborel®S (PI-LAB-044)

20.2 เอกสารกำกับสารควบคุมคุณภาพ Dade®Ci-trol®2 (PI-LAB-046)

20.3 เอกสารกำกับสารควบคุมคุณภาพ Control N (PI-LAB-047)

20.4 คู่มือการใช้เครื่อง CA-50 (MN-LAB-010)

20.5 เอกสารเรื่อง เครื่องตรวจวัดการแข็งตัวของเลือด รุ่น CA-50 (MN-LAB-014)



ประวัติการแก้ไข/ทบทวนเอกสารคุณภาพ

ชื่อเอกสาร.....WI-LAB-044 : วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง การตรวจ Prothrombin time

วัน/เดือน/ ปี	ฉบับแก้ไข ครั้งที่	รายละเอียด	ลงชื่อ
11 พ.ย.62	0	ฉบับแรก	ร.ต.หญิง อรกัญญา ฯ
1 พ.ย. 63	1	แก้ไขทั้งฉบับ	ร.ต.หญิง อรกัญญา ฯ
15 ก.พ. 64	2	แก้ไขค่าปกติ PT จาก 8.6-13.6 เป็น 10.1-13.3 และ PT-INR จาก 0.71-1.11 เป็น 0.85-1.15 เนื่องจากมีการเปลี่ยน lot น้ำยา	ร.ต.หญิง อรกัญญา ฯ
1 ก.พ. 66	3	แก้ไขหัวข้อที่ 12 ขั้นตอนการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ โดยเปลี่ยนโครงการที่เข้าร่วมจาก EQAS Coagulation Program เป็น โครงการ Thailand National External Quality Assessment Scheme for Blood Coagulation (Thailand NEQAS)	ร.ท.หญิง อรกัญญา ฯ



แผนกพยาธิวิทยา
โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง

การตรวจ Prothrombin time (PT)

WI-LAB-044

แก้ไขครั้งที่

ผู้จัดทำ ร.ท.หญิง
(อรกัญญา ทรงทอง)
ผู้จัดการวิชาการสาขาโลหิตวิทยาคลินิก
...../...../.....

ผู้ทบทวน
(อัญชิษฐา โยธาจันทร์)
ผู้จัดการวิชาการสาขาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก
...../...../.....

ผู้อนุมัติ พ.อ.
(ฉัตรมงคล คนขยัน)
หัวหน้าห้องปฏิบัติการ
...../...../.....

วันที่ประกาศใช้: (วัน) (เดือน) (ปี)