



แผนกพยาธิวิทยา
โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง

การตรวจ Activated Partial Thromboplastin Time (APTT)

WI-LAB-045
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

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สระรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Activated Partial Thromboplastin Time (APTT)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-045	หน้า 1 จาก หน้า 7
	แก้ไขครั้งที่ : 03	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ(purpose of examination)

- 1.1 เพื่อตรวจหาสาเหตุของเลือดออกง่าย หรือมีจ้ำเลือด
- 1.2 ประเมินความผิดปกติของปัจจัยการแข็งตัวของเลือดใน intrinsic pathway ได้แก่ factor XII, XI, X, IX, VIII, V,II, fibrinogen
- 1.3 ตรวจติดตามในผู้ป่วยที่ได้รับ unfractionated heparin
- 1.4 ผู้ป่วยที่สงสัยว่าจะมี inhibitor ต่อปัจจัยการแข็งตัวของเลือด เช่น factor VIII inhibitor

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

การตรวจวัดการแข็งตัวของเลือด (APTT) 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 จะเป็นตัวตรวจวัดแสงที่กระเจิงออกมาซึ่งความเข้มแสงนี้จะมากขึ้นตามความหนืดของ clot และเมื่อปฏิกิริยาการสร้างก้อน clot สมบูรณ์แล้ว ความเข้มแสงก็จะคงที่ เครื่องจะเก็บข้อมูลการเปลี่ยนแปลงความเข้มแสงนี้มาคำนวณและแสดงผลเป็นเวลาทั้งหมดในการเกิดก้อน clot ที่สมบูรณ์

3. ลักษณะทางประสิทธิภาพ (performance characteristics)


Specific Performance Characteristics

Precision studies using the methodologies listed in this insert show that properly performed APTT tests should result in a standard deviation (SD) which corresponds to a coefficient of variation (CV) of less than 4 % in the normal range. In additional clinical studies, duplicate determinations of an abnormal control plasma (clotting times of approximately 50 seconds) were performed over a period of 22 days. Results indicate that the APTT should agree within 4 % when performed properly.

4. ชนิดตัวอย่าง (type of sample) : Plasma

5. การเตรียมผู้ป่วย (patient preparation) : ไม่มี

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

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวาระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Activated Partial Thromboplastin Time (APTT)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-045	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 50ul, 100ul
- 7.3 Reaction tube (Cuvette)
- 7.4 น้ำยาทดสอบ APTT (Dade®Actin®FS Activated PTT Reagent)
- 7.5 น้ำยา CaCl_2

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)

Actin FS (สำหรับใช้ตรวจ APTT)


- เป็นน้ำยาพร้อมใช้งาน (ready to use) สีเหลืองใส
- กรณีที่ยังไม่ได้เปิดใช้เก็บไว้ที่ 2-8 องศาเซลเซียส วันหมดอายุตามข้างขวดน้ำยา
- ความคงตัวหลังจากเปิดใช้งานแล้วที่ 2 – 15 องศาเซลเซียส ความคงตัว 7 วัน

CaCl_2 (สำหรับใช้ตรวจ APTT)

- เป็นน้ำยาพร้อมใช้งาน (ready to use) ไม่มีสีและใส
- กรณีที่ยังไม่ได้เปิดใช้เก็บไว้ที่ 2-8 องศาเซลเซียส วันหมดอายุตามข้างขวดน้ำยา
- ความคงตัวหลังจากเปิดใช้งานแล้วที่ 2 – 25 องศาเซลเซียส ความคงตัว 2 เดือน

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

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สีหราช	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Activated Partial Thromboplastin Time (APTT)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-045	หน้า 3 จาก หน้า 7
แก้ไขครั้งที่ : 03	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

10.3 ขั้นตอนการทดสอบ

10.3.1 เปิดเครื่องที่ปุ่มเปิด-ปิดด้านขวา เครื่องจะตรวจสอบตัวเอง (Self test) ก่อน ถ้าไม่พบความผิดปกติใด 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

- น้ำยา APTT และน้ำยา CaCl_2 จะต้องวางใน Incubator ก่อนอย่างน้อย 10 นาที ยกเว้นน้ำยา APTT ไม่ควร incubate เกินกว่า 20 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
APTT	Citrate plasma	50 μl
	Actin FS	50 μl
	Calcium Chloride Solution	50 μl

และวางใน Detector ที่เลือกไว้ข้างต้น, กด Start ที่ Channel นั้น >> LED ของ Detector จะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีแดง >> หน้าจอจะแสดงเวลานับถอยหลังในการ incubate ก่อนครบเวลา incubate 5 วินาที จะมีเสียงสัญญาณเตือนเพื่อใส่ Reagent **APTT** : เมื่อใส่ Actin FS แล้ว เครื่องจะจับเวลา incubate ต่อและเมื่อครบเวลา incubate เติม CaCl_2 แล้วจึงปิดฝาทันที

เมื่อปฏิกิริยาการแข็งตัวของเลือดสิ้นสุดแล้ว หน้าจอจะแสดงผล และ Print ผลออกมา

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สีหราช	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Activated Partial Thromboplastin Time (APTT)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-045	หน้า 4 จาก หน้า 7
แก้ไขครั้งที่ : 03	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

11. ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพ (quality control procedures)

11.1 เตรียมน้ำยาควบคุมคุณภาพ (Quality control preparation)

11.1.1 Control Plasma N

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 คนไข้ รายแรกของวันโดยใช้ control 2 level ได้แก่ Control Plasma N และ Control Citrol 2 และมีการบันทึกการทำ IQC ลงในแบบบันทึกผลการควบคุมคุณภาพภายในการทดสอบ PT/PTT (FM-LAB-310/00)

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)

APTT : Dade®Actin®FS

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)

APTT : Actin®FS

11.4 เมื่อผล IQC ไม่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (out of control) จะต้องมีการหาสาเหตุและดำเนินการ



แก้ไขให้เรียบร้อยก่อนที่จะมีการตรวจวิเคราะห์คนไข้ และต้องมีการบันทึกการแก้ไขในแบบบันทึกการแก้ไข เมื่อผล IQC ไม่อยู่ในเกณฑ์ (FM-LAB-025) เพื่อป้องกันการเกิดซ้ำ

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 เจาะเลือดปริมาตรไม่เหมาะสม

13.2 diphenylhydantoin, heparin, warfarin, naloxone และ radiographic agent อาจมีผลทำให้ค่า APTT ที่ตรวจวัดได้มีค่าสูงกว่าความเป็นจริง

13.3 inhibitors ในกลุ่ม Lupus anticoagulant มีผลต่อการตรวจวัด

13.4 สิ่งส่งตรวจที่ hemolysis , Lipemic , Icteric , parenteral feeding มีผลรบกวนการตรวจวิเคราะห์

13.5 คนไข้ที่มีภาวะ Dysfibrinogenemia

13.6 คนไข้ที่มีค่า Hematocrit > 55 % (จะต้องมีการคำนวณเพื่อลดปริมาณสารกันเลือดแข็ง

13.7 คนไข้ที่ได้รับการรักษาด้วย Estrogen therapy

13.8 Hirudin หรือ ยาในกลุ่ม Direct thrombin inhibitors ที่ระดับการรักษา (therapeutic dose) อาจส่งผลทำให้ค่าที่ตรวจวัดได้ Prolong

13.9 คนไข้ที่ได้รับการรักษาด้วยยาในกลุ่ม Lipoglycopeptide antibacterial drugs (เช่น oritavancin หรือ telavancin) อาจมีผลรบกวนการตรวจ APTT

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

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

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

หมายเหตุ : จะต้องหา normal range ทุกครั้งที่มีการเปลี่ยน lot น้ำยา

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


Partial thromboplastin time (PTT) : 25.5 – 32.1 second

หมายเหตุ : ค่าปกติอาจมีการเปลี่ยนแปลงตาม Lot น้ำยา**16. ช่วงที่รายงานผลการทดสอบได้ (reportable interval of examination results)**

APTT : 15 – 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 โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Activated Partial Thromboplastin Time (APTT)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-045	หน้า 7 จาก หน้า 7
	แก้ไขครั้งที่ : 03	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

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

Partial thromboplastin time (PTT) > 100 second

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

- APTT ควรตรวจวิเคราะห์ภายใน 4 ชั่วโมง

21. เอกสารอ้างอิง (references)

20.1 เอกสารกำกับน้ำยา Dade[®] Actin[®] FS Activated PTT Reagent (PI-LAB-045)

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-045 : วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง การตรวจ Activated Partial Thromboplastin Time

วัน/เดือน/ ปี	ฉบับแก้ไข ครั้งที่	รายละเอียด	ลงชื่อ
11 พ.ย.62	0	ฉบับแรก	ร.ต.หญิงอรกัญญา ฯ
1 พ.ย.63	1	แก้ไขทั้งฉบับ	ร.ต.หญิงอรกัญญา ฯ
15 ก.พ. 64	2	แก้ไขค่าปกติ APTT จาก 24.2 – 31.5 second เป็น 25.5 – 32.1 second เนื่องจากมีการเปลี่ยน lot ของน้ำยา	ร.ต.หญิงอรกัญญา 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 Activated Partial Thromboplastin Time (APTT)

WI-LAB-045

แก้ไขครั้งที่

ผู้จัดทำ ร.ท.หญิง

(อรกัญญา ทรงทอง)

ผู้จัดการวิชาการสาขาโลหิตวิทยาคลินิก

...../...../.....

ผู้ทบทวน

(อัญชิษฐา โยธาจันทร์)

ผู้จัดการวิชาการสาขาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก

...../...../.....

ผู้อนุมัติ

พ.อ.

(ฉัตรมงคล คนขยัน)

หัวหน้าห้องปฏิบัติการ

...../...../.....

วันที่ประกาศใช้: (วัน) (เดือน) (ปี)