

นิพนธ์ต้นฉบับ

การตรวจ Screening Coagulogram ด้วยเครื่องอัตโนมัติ

พรวิริย์ ลำเจียกเทศ, พรศรี ตันตินิติ, กฤษณา ปิปปิโชติวงศ์ และ วนาคันธี บุญยปรัตยษ

ภาควิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตโรงพยาบาลศิริราช เขตบางกอกน้อย กรุงเทพฯ 10700

บทคัดย่อ: การตรวจ prothrombin time (PT), activated thromboplastin time (APTT) และ thrombin time (TT) เป็นการตรวจคัดโรคทางห้องปฏิบัติการที่มีประโยชน์ในการประกอบการวินิจฉัยความผิดปกติของการแข็งตัวของเลือดและติดตามการรักษาด้วยสารต้านการแข็งตัวของเลือด เมื่อเร็วๆ นี้ได้มีการนำเครื่องอัตโนมัติมาใช้วัดจุดจบของการแข็งตัวของเลือดทดสอบดังกล่าวข้างต้น โดยทั่วไปบริษัทผู้ผลิตเครื่องมือบางบริษัทจะกำหนดให้ใช้น้ำยาที่ผลิตเฉพาะเครื่องมืออื่นๆ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะเปรียบเทียบค่า PT, APTT และ TT ที่ได้จากการวัดด้วยเครื่องอัตโนมัติ BCT กับวิธี manual โดยใช้น้ำยา 3 ชนิดในผู้ที่มีสุขภาพดี 80 ราย ผลการทดสอบที่ได้เกือบทั้งหมดโดยวิธีใช้เครื่องอัตโนมัติมีค่าสั้นกว่าวิธี manual อย่างมีนัยสำคัญ จากข้อมูลดังกล่าวเสนอแนะว่า ห้องปฏิบัติการควรกำหนดช่วงค่าอ้างอิงของการตรวจคัดโรคทางด้านการแข็งตัวของเลือดของตนเอง เนื่องจากมีความแตกต่างของความไวของน้ำยาและวิธีการที่ใช้ในการวัดเวลาที่ใช้การแข็งตัวของเลือดทดสอบ

Key Words : ● Prothrombin time ● Activated partial thromboplastin time ● Thrombin time
● Automation ● Tilt-tube method

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2544;11:85-92.

การทดสอบทางห้องปฏิบัติการที่นิยมใช้ในงานประจำวัน เพื่อตรวจหาความผิดปกติของระบบการแข็งตัวของเลือด ได้แก่ prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT) และ thrombin time (TT) PT เป็นการทดสอบที่มีความไวต่อการขาดปัจจัยการแข็งตัวของเลือดใน extrinsic pathway โดยเฉพาะอย่างยิ่งการขาด factor VII และใช้ควบคุม

ระดับยาในการรักษาด้วยยาต้านการแข็งตัวของเลือดชนิดรับประทาน (oral anticoagulant) APTT เป็นการทดสอบปัจจัยการแข็งตัวของเลือดใน intrinsic pathway มีประโยชน์ในการตรวจคัดโรค (screening) สำหรับโรคฮีโมฟีเลีย, การมีสารยับยั้ง (inhibitors) และใช้ติดตามผลการรักษาด้วยเฮปาริน TT เป็นการวัดการเปลี่ยนไฟบริโนเจนเป็นไฟбрิน ดังนั้นจึงมีความไวต่อภาวะที่มีความพร่องหรือความผิดปกติของไฟบริโนเจน เช่น dysfibrinogenemia, hypofibrinogenemia, afibrinogenemia และยังสามารถใช้ติดตามผลการรักษาด้วยเฮปาริน การทดสอบเหล่านี้มีความแตกต่างกัน

ได้รับต้นฉบับ 29 พฤษภาคม 2544 และให้ตีพิมพ์ 9 มิถุนายน 2544
ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ นางสาวพรวิริย์ ลำเจียกเทศ ภาควิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตโรงพยาบาลศิริราช เขตบางกอกน้อย กรุงเทพฯ 10700

มากระหว่างห้องปฏิบัติการ ทั้งนี้เนื่องมาจากวิธีการเก็บตัวอย่างตรวจ ความเข้มข้นของสารกันเลือดแข็ง ความไวของน้ำยาต่อการขาดปัจจัยการแข็งตัวของเลือดและวิธีการดูจุดจบของปฏิกิริยา National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) ได้กำหนดให้เจาะเลือดจากหลอดเลือดดำใส่ในหลอดที่มีสารกันเลือดแข็ง 3.2 หรือ 3.8% sodium citrate โดยหลอดที่เก็บตัวอย่างเลือดต้องเป็นหลอดที่ 2 หรือ 3^{1,2} ถ้าผู้ป่วยไม่มีการทดสอบชนิดอื่นให้เจาะเลือดใส่หลอดแรก 1-2 มล. ก่อนจะเก็บเลือดในหลอดที่ 2 เพื่อลดการปนเปื้อนของ tissue thromboplastin ซึ่งมีผลทำให้การทดลองผิดพลาด ในทางปฏิบัติการเก็บเลือดโดยวิธีดังกล่าวทำได้ยาก เมื่อเร็ว ๆ นี้มีผู้รายงานว่า การตรวจ PT³⁶ และ APTT^{6,6} โดยวิธีใช้เครื่องอัตโนมัติในหลอดที่เจาะใส่หลอดที่ 1 และ หลอดที่ 2 ไม่มีความแตกต่างกัน และเสนอว่าไม่จำเป็นต้องใช้หลอดในหลอดที่ 2 ถ้าผู้เจาะเลือดเป็นผู้ที่มีความชำนาญและเจาะเลือดโดยใช้หลอดสุญญากาศ นอกจากนี้ Ivey และคณะ⁷ ได้รายงานว่าการทดสอบ PT และ APTT ไม่จำเป็นต้องทำซ้ำ (duplicate) ถ้าใช้เครื่องอัตโนมัติ เครื่องอัตโนมัติที่ใช้ในปัจจุบันมีหลายหลักการ แต่ละหลักการมีความไว และข้อจำกัดไม่เหมือนกัน และยังไม่มีการกำหนดมาตรฐาน นอกจากนี้บริษัทผู้ผลิตเครื่องบางบริษัทยังระบุชนิดของน้ำยาที่ใช้เฉพาะกับเครื่องของตนเท่านั้น ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่ห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งต้องหาค่าอ้างอิงของตนเอง

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะหาค่าอ้างอิงของ PT, APTT และ TT ในคนไทยที่มีสุขภาพดี โดยใช้ตัวอย่างตรวจที่ได้จากเลือดที่เจาะในหลอดแรก วัดการแข็งตัวของเลือดด้วยวิธีใช้เครื่องอัตโนมัติ Behring Coagulation Timer (BCT; Behringwerke AG, Germany) ซึ่งใช้หลักการวัดการเปลี่ยนแปลงของความขุ่นของพลาสมาเมื่อถึงจุดจบของปฏิกิริยา เปรียบเทียบกับวิธี manual โดยใช้หน่วยวัดต่าง ๆ 3 ชนิดในการทดสอบ

วัสดุและวิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างตรวจ

ตัวอย่างตรวจได้จากอาสาสมัครที่มีสุขภาพดี ไม่มีประวัติเลือดออกผิดปกติและมีค่าปกติทางโลหิตวิทยา จำนวน 80 คน (ชาย 40 คน หญิง 40 คน) อายุ 19-43 ปี (เฉลี่ย 29 ± 7 ปี) โดยเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำ 9 มล. ใส่หลอดพลาสติกที่มีสารกันเลือดแข็ง 3.8% sodium citrate 1 มล. นำไปปั่นด้วยความเร็ว 3,000 รอบ/นาที นาน 15 นาที แยกพลาสมาออกแล้วนำไปแช่ในกระติกน้ำแข็ง นำไปทดสอบ PT, APTT และ TT โดยวิธีใช้เครื่องอัตโนมัติ BCT และวิธี manual ภายในเวลา 4 ชั่วโมง

2. น้ำยาสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดสอบ

PT ได้แก่ Thromborel S (Behringwerke AG, Germany), Simplastin Excel S (Organon Teknika, U.S.A.) และ Neoplastine CI Plus (Diagnostica Stago, France)

APTT ได้แก่ Pathromtin SL (Behringwerke AG, Germany), Platelin Excel LS (Organon Teknika, U.S.A.) และ C.K. Prest (Diagnostica Stago, France)

TT ได้แก่ Test Thrombin (Behringwerke AG, Germany), Thromboquik (Organon Teknika, U.S.A.) และ Thrombin Prest (Diagnostica Stago, France)

Control Plasma N (Behringwerke AG, Germany)

3. การทดสอบ PT, APTT และ TT โดยวิธีใช้เครื่องอัตโนมัติ BCT⁸

เครื่องอัตโนมัติ BCT เป็นเครื่องที่ควบคุมการทำงานโดยคอมพิวเตอร์ สามารถตั้งโปรแกรมการทดสอบ สามารถดูตัวอย่างตรวจจาก primary tube และดูน้ำยาชนิดต่างๆ ที่ใช้ในการทดสอบ อุณหภูมิและพลาสมาที่อุณหภูมิ 37 °C และวัดการเกิด fibrin clot โดยใช้

หลักการ วัดการเปลี่ยนแปลงของแสง (photometry) โดยวัดที่ 340 nm แต่ถ้าวัดสีในปฏิกิริยา chromogenic จะวัดที่ 405 nm และวัดปฏิกิริยาทาง immunologic ที่ 620 nm นอกจากนี้ยังสามารถกำหนดให้ทำการทดสอบครั้งเดียว หรือทำซ้ำ 2 ครั้ง (duplicate) วิธีการทดสอบ PT, APTT และ TT จะตั้งโปรแกรมตามเอกสารที่แนบมากับน้ำยาแต่ละชนิด ใช้ปริมาณพลาสมาและน้ำยาจำนวนครึ่งส่วนของการทดสอบวิธี manual เครื่องสามารถวัดค่า PT หรือ TT ได้ 185 ราย/ชั่วโมง และ APTT 70-100 ราย/ชั่วโมง (แล้วแต่ชนิดของน้ำยา)

4. การทดสอบ PT, APTT และ TT โดยวิธี manual

วิธีการทดสอบ PT, APTT และ TT จะทำตามเอกสารที่แนบมากับน้ำยาแต่ละชนิด การอ่านจุดจบของการทดสอบ ใช้วิธีการยกหลอดทดสอบเอียงดูการแข็งตัวระหว่างส่วนผสมของพลาสมากับน้ำยา (tilt-tube method) ทุกๆ 5 วินาที จุดจบคือการเกิดสายใยไฟบริน ซึ่งจะหักลง 3 วินาที ถ้าเห็น fibrin เป็น solid clot หักลง 2 วินาทีถ้าเป็น gel รายงานผลที่ได้จากค่าเฉลี่ยของการทดสอบ 2 ครั้ง

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์การกระจายตัวของข้อมูล การเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มข้อมูลที่ใช้การทดสอบ

Kolmogorov-Smirnov test (K-S test), Friedman test, Wilcoxon signed-ranks test และ Mann-Whitney U test (M-W test) ทำโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS/PC+ (Microsoft Corp., U.S.A.)

ผลการศึกษา

ค่า PT, APTT และ TT ของผู้มีสุขภาพดีที่ตรวจโดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปทั้ง 3 ชนิดโดยวิธีใช้เครื่องอัตโนมัติ BCT และวิธี manual (ตารางที่ 1-3) มีการกระจายตัวของข้อมูลระหว่างเพศชายและเพศหญิงแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อรวมข้อมูลทั้งหมดแล้วเปรียบเทียบการกระจายตัวของข้อมูลระหว่างน้ำยาทั้ง 3 ชนิดพบว่าที่ได้จากวิธีใช้เครื่องอัตโนมัติมีความแตกต่างจากวิธี manual อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0001$) ยกเว้นน้ำยา Simplastin Excel S ที่ใช้ในการทดสอบ PT และ Platelin Excel LS ที่ใช้ในการทดสอบ APTT เท่านั้นที่มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

การกระจายตัวของข้อมูลและค่าเฉลี่ยของค่า PT ที่ได้จากน้ำยา Thromborel S วัดโดยวิธีเครื่องอัตโนมัติ จะมีความแตกต่างจากน้ำยา Simplastin Excel S และ Neoplastine CI plus อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) ส่วนค่า APTT และ TT เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยของ prothrombin time โดยวิธีใช้เครื่องอัตโนมัติ BCT และวิธี manual ของผู้มีสุขภาพดี

Subject	Prothrombin time (sec)					
	BCT			Manual		
	Thromborel S*	Simplastin Excel S**	Neoplastine CI plus*	Thromborel S*	Simplastin Excel S**	Neoplastine CI plus*
Males (n = 40)	11.7±1.0	13.5±1.6	12.6±1.8	13.0±0.3	14.0±1.7	13.2±0.9
Females (n = 40)	12.1±1.3	14.0±1.6	12.6±1.3	13.0±0.0	13.9±1.4	12.9±0.4
Total (n = 80)	11.9±1.2	13.8±1.6	12.6±1.5	13.0±0.2	13.9±1.6	13.0±0.6

* significant difference between BCT and Manual method ($p < 0.0001$)

** not significant difference between BCT and Manual method

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยของ activated partial thromboplastin time โดยวิธีใช้เครื่องอัตโนมัติ BCT และวิธี manual ของผู้มีสุขภาพดี

Subject	Activated partial thromboplastin time (sec)					
	BCT			Manual		
	Pathromtin SL*	Platelin	C.K. Prest*	Thromborel S*	Simplastin	Neoplastine
	Excel LS**				Excel S**	CI plus*
Males (n = 25)	34.0±3.2	34.9±3.3	29.9±2.4	34.0±3.9	33.7±3.2	31.3±3.2
Females (n = 25)	32.2±4.2	34.9±4.6	28.0±2.6	32.8±4.1	34.4±4.6	32.8±4.1
Total (n = 50)	33.5±3.5	34.9±4.1	29.1±2.6	33.5±4.0	34.0±3.9	30.8±3.4

* significant difference between BCT and Manual method ($p < 0.0001$)

** not significant difference between BCT and Manual method

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยของ thrombin time โดยวิธีใช้เครื่องอัตโนมัติ BCT และวิธี manual ของผู้มีสุขภาพดี

Subject	Thrombin time (sec)					
	BCT			Manual		
	Test	Thromboquik*	Thrombin	Test	Thromboquik*	Thrombin
	Thrombin*		Prest*	Thrombin*		Prest*
Males (n = 40)	11.7±1.0	12.8±1.5	19.6±1.6	16.1±2.6	14.9±3.7	22.6±2.6
Females (n = 40)	11.4±0.8	13.3±2.7	20.1±1.6	16.3±4.8	14.2±4.5	22.3±2.8
Total (n = 80)	11.5±0.9	13.0±2.2	19.8±1.6	16.2±3.9	14.6±4.1	22.5±2.7

* significant difference between BCT and Manual method ($p < 0.0001$)

ชนิดของน้ำยา พบว่าน้ำยาทั้ง 3 ชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0001$) ทั้งสองวิธี

การศึกษาความแม่นยำ (reproducibility) ของเครื่องอัตโนมัติ BCT (ตารางที่ 4) โดยใช้ control normal plasma สำเร็จรูป น้ำยาที่มีค่าสัมประสิทธิ์การกระจาย (coefficient of variation, CV) น้อยที่สุดสำหรับ PT, APTT และ TT คือ Thromborel S (1.65%), C.K. Prest (5.65%) และ Test Thrombin (2.77%) ตามลำดับ

วิจารณ์

ปัจจุบันการวัดปฏิกิริยาการแข็งตัวของเลือดโดยใช้เครื่องอัตโนมัติเป็นที่แพร่หลาย เนื่องจากมีความสะดวก

รวดเร็วและมีความแม่นยำมากกว่าวิธีการดูการเกิด fibrin clot ด้วยตา การแปลผลของการทดสอบ PT, APTT และ TT ต้องคำนึงถึงความไวของน้ำยา วิธีการและหลักการของเครื่องมือ รวมถึงค่าปกติ ซึ่งจะมีความแตกต่างกันระหว่างห้องปฏิบัติการ เนื่องจากยังขาดการกำหนดมาตรฐานสำหรับ normal control plasma ที่ใช้ในการควบคุมคุณภาพของการทดสอบ การแปลผลของค่าที่ผิดปกติต้องเทียบจากช่วงค่าอ้างอิงของห้องปฏิบัติการนั้นๆ สำหรับความไวของน้ำยา PT จะขึ้นกับชนิดของเนื้อเยื่อนำมาเตรียม thromboplastin และค่า International Sensitivity Index (ISI) น้ำยาที่มีความไวสูงจะมีค่า ISI ใกล้เคียงกับน้ำยามาตรฐานที่เตรียมจาก International Reference Preparation (ISI = 1) น้ำ

ตารางที่ 4 ความแม่นยำของการทดสอบ PT, APTT และ TT โดยวิธีใช้เครื่องอัตโนมัติ BCT

	mean±SD (sec)	(CV) (%)
PT		
Thromborel S (n = 10)	11.6±0.9	(1.65)
Simplastin Excel S (n = 6)	13.2±0.5	(4.07)
Neoplastine CI plus (n = 6)	12.0±0.3	(2.49)
APTT		
Pathromtin SL (n = 10)	36.8±2.7	(7.32)
Platelin Excel LS (n = 10)	39.5±2.5	(6.24)
C.K. Prest (n = 10)	31.6±1.8	(5.65)
TT		
Test Thrombin (n = 6)	12.1±0.3	(2.77)
Thromboquik (n = 6)	14.6±1.5	(10.07)
Thrombin Prest (n = 6)	19.7±1.7	(8.72)

ยาที่เตรียมจากเนื้อเยื่อของสัตว์จะมีค่า ISI สูงและมีความไวต่ำกว่า วิธีการวัดจุดจบของปฏิกิริยา fibrin clot จะมีผลต่อค่า PT เช่นเดียวกัน ซึ่งความแตกต่างนี้จะลดลงถ้ารายงานผลเป็น PT ratio (PT ของผู้ป่วย ÷ PT คนปกติ)⁹⁻¹¹ ในการศึกษาครั้งนี้ค่า PT ที่ได้วิธีเครื่องอัตโนมัติโดยใช้น้ำยา Thromborel S (เตรียมจากรกของมนุษย์ ISI = 1.07) และน้ำยา Neoplastine CI plus (เตรียมจากสมองกระต่าย ISI = 1.29 เมื่อเทียบกับ secondary standard ของ rabbit brain thromboplastin, RBT) มีค่าสั้นกว่าวิธี manual อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นน้ำยา Simplastin Excel S (เตรียมจากสมองกระต่าย ISI = 1.30) แม้ว่าค่าปกติทั้งสองวิธีจะใกล้เคียงกัน D'Angelo และคณะ¹² ได้ศึกษาเปรียบเทียบน้ำยา PT 7 ชนิด โดยวิธีใช้เครื่องอัตโนมัติ 2 ชนิดเทียบกับวิธี manual พบว่าค่าที่ได้จากวิธีใช้เครื่องอัตโนมัติมีค่าสั้นกว่าและมีความแม่นยำมากกว่า แต่การรายงานค่า PT ratio ไม่สามารถลดอคติ (bias) ระหว่างวิธีการทดสอบ ส่วนการรายงานเป็นค่า INR (Intern-

tional Normalized Ratio = [PT ratio]^{ISI}) ซึ่งใช้สำหรับผู้ป่วยที่รับประทานยาต้านการแข็งตัวของเลือดจะช่วยลด bias ระหว่างชนิดของ thromboplastin แต่ไม่ลด bias ระหว่างวิธีการทดสอบ เนื่องจากพบว่าในผู้ป่วยบางกลุ่มมีค่า INR ที่คำนวณจากค่า PT ที่ได้จากเครื่องอัตโนมัติมีค่าสูงกว่าค่าที่ได้จากวิธี manual และเสนอแนะว่า ควรมีการกำหนดมาตรฐานของเครื่องอัตโนมัติและน้ำยาสำหรับการใช้ค่า PT ในการติดตามการรักษาด้วยยาต้านการแข็งตัวของเลือดชนิดรับประทาน นอกจากนี้ Cunningham และคณะ¹³ ได้ศึกษาพบว่าค่า ISI ของน้ำยาที่กำหนดโดยผู้ผลิต (ซึ่งทำโดยวิธีการของบริษัทผู้ผลิต) จะทำให้เกิดความแตกต่างกันของค่า INR ถ้าใช้เครื่องอัตโนมัติวัด PT ที่แตกต่างจากเครื่องอัตโนมัติที่บริษัทผู้ผลิตใช้ในการกำหนดค่า ISI ความแตกต่างของค่า INR มีความสำคัญทางคลินิกมากเพราะเป็นดัชนีบ่งชี้ว่าผู้ป่วยได้รับยาต้านการแข็งตัวของเลือดมากหรือน้อย เพราะถ้าระดับยาสูงเกินไปจะเกิดภาวะเลือดออกผิดปกติ แต่ถ้าระดับยาต่ำเกินไปก็จะไม่ช่วยป้องกันการเกิด thrombosis

ในการวัดค่า APTT น้ำยาจะมีความแตกต่างกันที่สารที่ใช้เป็น activator กระตุ้น contact activation factor และสารที่มีคุณสมบัติคล้าย platelet factor³ ดังนั้นน้ำยาแต่ละชนิดจะมีความไวต่อการขาด factor VIII, IX, XI, และ XII ไม่เท่ากัน รวมถึงความไวต่อเฮปารินและสารต้านการแข็งตัวของเลือด เช่น lupus anticoagulant จะไม่เท่ากันด้วย ในการศึกษาครั้งนี้ น้ำยา Pathromtin SL, Platelin Excel LS และ C.K. Prest สารที่ใช้เป็น activator ได้แก่ silicon dioxide particle, micronized silica และ kaolin ตามลำดับ ทั้ง 3 ชนิด มีค่าเฉลี่ยใกล้เคียงกันทั้งสองวิธี น้ำยา C.K. Prest ซึ่งเป็นน้ำยาที่มีความขุ่น มีค่าเฉลี่ยต่ำกว่าน้ำยาอีก 2 ชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ Howarth¹⁴ ได้ศึกษาน้ำยา APTT สำหรับเครื่องอัตโนมัติ 9 ชนิดพบว่า Platelin Excel LS มีความไวต่อการขาด factor VIII, IX, XI และ XII

คิดเป็นร้อยละ 44, 54, 74 และ 76 ตามลำดับ มีความไวต่อเฮปาริน 0-0.8 IU/mL และให้ผลยาวผิดปกติในพลาสมาที่มี lupus anticoagulant Turi และคณะ¹⁵ ได้ศึกษาเปรียบเทียบระหว่างน้ำยา 3 ชนิดโดยวิธีใช้เครื่องอัตโนมัติ พบว่าน้ำยาที่ประกอบด้วย micronized silica และ ellagic acid มีความไวต่อการขาด factor VII, X และ XII ใกล้เคียงกัน แต่น้ำยาที่ประกอบด้วย micronized kaolin มีความไวต่ำกว่า ความไวต่อการขาด factor XI น้ำยาทั้ง 3 ชนิดให้ค่าใกล้เคียงกัน ส่วนความไวต่อการขาด factor IX น้ำยา ellagic acid มีความไวมากที่สุด และน้ำยา micronized kaolin มีความไวน้อยที่สุด สำหรับน้ำยา silicon dioxide particle ไม่มีข้อมูล นอกจากความแตกต่างของชนิดน้ำยาแล้ว ยังมีผู้รายงานถึงความแตกต่างของความไวต่อเฮปารินระหว่าง lots ของน้ำยา¹⁶ ดังนั้นการเลือกใช้น้ำยาควรเลือกให้ตรงกับวัตถุประสงค์ เช่น ถ้าต้องการตรวจคัดโรคควรใช้น้ำยาที่มีความไวต่อการขาด factor VIII และ IX เพราะเป็นภาวะที่พบบ่อยในประเทศไทย แต่ถ้าใช้ติดตามการรักษาด้วยเฮปารินควรเลือกน้ำยาที่มีความไวต่อเฮปารินและเมื่อเปลี่ยนน้ำยา lots ใหม่ควรเปรียบเทียบกับ lots เดิมเพื่อประโยชน์ในการรักษาผู้ป่วยเนื่องจากยังไม่สามารถกำหนดมาตรฐานของค่า APTT¹⁷⁻²⁰ ที่ใช้ในการรักษาด้วยเฮปาริน

สำหรับการทดสอบ TT เป็นการทดสอบที่ใช้ค่อนข้างน้อยและยากที่จะกำหนดมาตรฐานเนื่องจากมีความแตกต่างของชนิดและความเข้มข้นของ thrombin เทคนิคที่ใช้ในการทดสอบ และความไม่คงทนของน้ำยาที่นำมาเจือจางก่อนใช้ ดังจะเห็นได้จากค่าที่แตกต่างกันในแต่ละชนิดในทั้งสองวิธี แม้ว่าน้ำยา thrombin ที่ใช้จะเตรียมจาก bovine และมีความเข้มข้นประมาณ 3 NIH units/mL

การศึกษาครั้งนี้ที่ได้เกือบทั้งหมดโดยวิธีใช้เครื่องอัตโนมัติมีค่าต่ำกว่าวิธี manual อย่างมีนัยสำคัญ และมีความแตกต่างระหว่างชนิดของน้ำยา จำเป็นที่ห้อง

ปฏิบัติการต้องพิจารณาเลือกใช้น้ำยาและช่วงค่าอ้างอิงที่เหมาะสมในการตรวจคัดโรคทางด้านการแข็งตัวของเลือดของตนเอง เนื่องจากมีความแตกต่างของความไวของน้ำยาและวิธีการที่ใช้ในการวัดเวลาที่ใช้การแข็งตัวของการทดสอบ

เอกสารอ้างอิง

11. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture*. 3rd ed. Approved Standard, NCCLS document H3-A3. Villanova, Pa: NCCLS; 1991.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Collection, transport, and processing of blood specimens for coagulation testing and performance of coagulation assays*. 2nd ed. Approved Guideline, NCCLS document H21-A2. Villanova, Pa: NCCLS; 1991.
13. Yawn BP, Loge C, Dale J. Prothrombin time. One tube or two. *Am J Clin Pathol* 1996;105:794-7.
14. Brigden ML, Graydon C, McLeod B, Lesperance M. Prothrombin time determination. The lack of need for a discard tube and 24-hour stability. *Am J Clin Pathol* 1997;108:422-6.
15. Gottfried EL, Adachi MM. Prothrombin time and activated partial thromboplastin time can be performed on the first tube. *Am J Clin Pathol* 1997;107:681-3.
16. McGlasson DL, More L, Best HA, Norris WL, Doe RH, Ray H. Drawing specimens for coagulation testing : is a second tube necessary? *Clin Lab Sci* 1999;137-9.
17. Ivey LM, Thom JY, Baker RI. Single or duplicate analysis for automated prothrombin time and activated partial thromboplastin time? *Pathol* 1997;29:67-71.
18. Behringwerke AG. *Behring Coagulation Timer instruction manual*. Version 1.4. Frankfurt, Behring Diagnostics. 1996.
19. Poller L, Thomson JM, Yee KF. Automated versus manual techniques for the prothrombin time test: results of proficiency assessment studies. *Br J Haematol* 1978;38:391-9.
20. Starr H, Rhoades P, Lam Po Tang PRLC, Archer GT.

- Prothrombin time: an evaluation for four thromboplastins and four machines. Pathol 1986;12:567-74.*
11. Zucker S, Brosious E, Cooper GR. *One-stage prothrombin time survey. Am J Clin Pathol 1970;53 : 340-7.*
 12. D'Angelo A, Seveso MP, D'Angelo SV, et al. *Comparison of two automated coagulometers and the manual tilt-tube method for the determination of prothrombin time. Am J Clin Pathol 1989;92:321-8.*
 13. Cunningham MT, Johnson GF, Pennell BJ, Olson JD. *The reliability of manufacturer-determined, instrument-specific International Sensitivity Index values for calculating the International Normalized Ratio. J Clin Pathol 1994;102:128-33.*
 14. Howarth S. *Activated partial thromboplastin time reagents : an evaluation. Br J Biomed Sci 1993;50:109-13.*
 15. Turi DC, Peerschke EI. *Sensitivity of three activated partial thromboplastin time reagents to coagulation factor deficiencies. Am J Clin Pathol 1986;85:43-9.*
 16. Rosborough TK. *Comparing different lots of activated partial thromboplastin time reagent. Analysis of two methods. Am J Clin Pathol 1998;110:173-7.*
 17. Koepke JA. *Partial thromboplastin time test. Proposed performance guidelines. ICSH Panel on the PTT. Thromb Haemost 1986;55:143-4.*
 18. Kritikos VG, Melhem MF. *Comparison of three prothrombin time and activated partial thromboplastin time reagent systems on the MLA 700 coagulation analyzer. Clin Lab Sci 1993;6:302-7.*
 19. Van der Velde EA, Poller L. *The APTT monitoring of heparin. The ISTH/ICSH collaborative study. Thromb Haemost 1995;73:73-81.*
 20. Opartkiattikul N. *Standardization of coagulation tests. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1999;30 (suppl 3):79-85.*

Determination of Screening Coagulogram by Automated Analyzer

**Pornvaree Lamchiaghase, Pornsri Tantiniti, Kritsana Pathepchoti Wong,
and Vanakanueng Boonyaparattayod**

*Department of Clinical Microscopy, Faculty of Medical Technology, Mahidol University, Siriraj Hospital Campus,
Bangkoknoi, Bangkok 10700, Thailand*

Abstract: Prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT), and thrombin time (TT) are common screening laboratory tests that are useful in the diagnosis of coagulation disorders and monitoring anticoagulant therapy. Recently, the automated machines have been introduced to measure the clotting end points of the screening tests above. Usually, the manufacturers of some of these instruments have advocated the use of special brands of commercial reagents. The purpose of this study was to compare the three kinds of commercial reagents for PT, APTT, and TT by fully automated BCT system with manual tilt-tube method in 80 healthy subjects. Almost all of the test results from the automated analyzer were significantly shorter than manual method. On the basis of these data, it is recommended that the laboratory should set the own reference range for the screening coagulation tests due to different kind of sensitivity of the reagents and the method used in measuring the clotting times.

Key Words : ● Prothrombin time ● Activated partial thromboplastin time ● Thrombin time
● Automation ● Tilt-tube method

Thai J Hematol Transf Med 2001;11:85-92.