บทบรรณาธิการ

Activated Partial Thromboplastin Time (APTT)

วิชัย ประยูรวิวัฒน์ พ.บ.

ในปี พ.ศ. 2496 Langdell และคณะ[1] ได้เสนอวิธีตรวจการแข็งตัวของเลือดอย่างง่าย ๆ แบบ one-stage coagulation test ซึ่งมีความไวมากโดยเฉพาะต่อการขาด antihemophilic factor หรือ แฟคเตอร์ VIII การทดสอบนี้ทำโดยใส่ partial thromboplastin หรือ platelet substitute ลงไปในพลาสม่าของผู้ป่วยแล้วตามด้วย recalcification ที่ใช้คำว่า "partial" เนื่องจากมีการแข็งตัวของพลาสม่าช้ากว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการแข็งตัวของ hemophiliac พลาสม่า กับ complete thromboplastin และ platelet thromboplastic activity เป็นชนิด incomplete หรือ partial เมื่อเปรียบเทียบกับ tissue juice thromboplastic activity เวลาที่ใช้ในการแข็งตัวของพลาสม่าจะแปรผกผันเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของ first-stage procoagulant

Uses of the APTT

มีการใช้การทดสอบ APTT อย่างกว้างขวางทั้งในการวินิจฉัยโรคฮีโมฟิเลีย และดัดแปลงการทดสอบนี้ในการตรวจหาปริมาณของแฟคเตอร์ VIII และ IX รวมทั้ง procoagulant อื่น ๆ ทำให้สามารถให้การวินิจฉัยโรคฮีโมฟีเลียได้ดีขึ้นและให้การรักษาที่มีประสิทธิภาพ มีการพัฒนาการใช้ cryoprecipitate และ factor VIII concentrate

นอกจากนี้ยังใช้ APTT ในการติดตามผลการรักษาด้วยเฮปาริน[2]

ตารางที่ 1 Possible cause of prolonged APTT test

Procoagulant deficiency	
	Factors VIII, I, XI, V, XII, X, Fletcher, HMWK*
Coagulation factor inhibitor	
	Factor VIII
	Lupus anticoagulant
	Others
Heparin	

*High molecular weight kininogen

หน่วยโลหิตวิทยา อายุรศาสตร์ วิทยาลัยแพทย์ศาสตร์ โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า กรุงเทพ ฯ

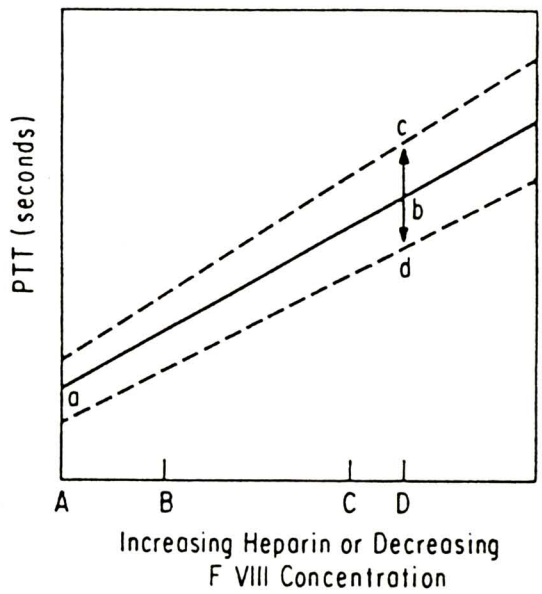
ตารางที่ 2 APTT coagulation systems

Reagents	
	Brain extracts-partial thromboplastin
	Phospholipids, reagent grade
Methods	
	Visual endpoint Fibrin strand
	Photo-optical
Activators	
	Kaolin Celite Silica
	Bentonitd Ellagic acid

Sensitivity and Precision

การทดสอบ APTT มีหลายวิธี และมี reagent หลายชนิด ทั้งที่ซื้อจากบริษัทต่าง ๆ และที่เตรียมขึ้นใช้เอง ดังตารางที่ 2 ตัวอย่างเช่น ในปี พ.ศ. 2516 College of American Pathologist (CAP) ได้สำรวจพบว่ามีการหา APTT ด้วยวิธีการและใช้ reagent แตกต่างกันถึง 35 ระบบ[3] แต่หลังจากนั้นได้มีการใช้ reagent ลดลงเหลือเพียง 3 ชนิด และวิธีการแตกต่างกันน้อยลง

การทดสอบที่ดีควรมีค่า precision และ sensitivity ที่ยอมรับได้ precision หมายถึงต้องมี reproducibility ของผลที่ได้คงที่ เมื่อทำซ้ำระหว่างห้องปฏิบัติการต่าง ๆ sensitivity หมายถึง ค่าแตกต่างกันระหว่าง clotting time ของพลาสม่าปรกติและพลาสม่าผิดปรกติ หรืออีกนัยหนึ่งคือ ความสามารถของการทดสอบในการแยกพลาสม่าที่ปรกติจากพลาสม่าที่ผิดปรกติ ตัวอย่างเช่น สามารถตรวจสอบพบความผิดปรกติของพลาสม่าที่มี F VIII ร้อยละ 5 และพลาสม่าที่มี F VIII ร้อยละ 10^3 ดังนั้นค่า APTT จะใช้แปลผลได้ต้องประกอบด้วย precision และ sensitivity ดังแสดงใน รูปที่ 1 ค่า APTT เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ heparin เพิ่มขึ้น หรือ F VIII



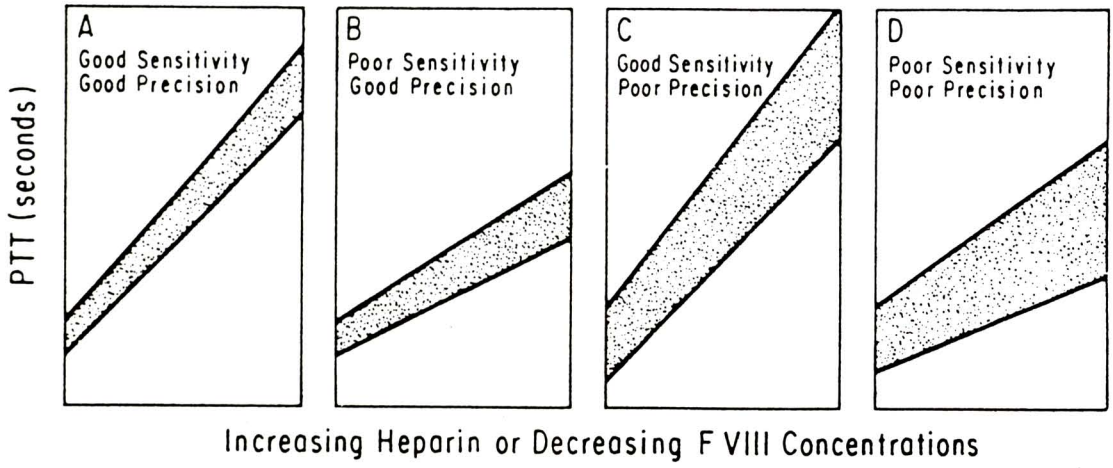
รูปที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ของ PTT กับ heparin และ F VIII concentration

(หรือ procoagulant factor อื่น ๆ) ลดลง

ค่า precision ของ APTT แสดงในเห็นโดยพื้นที่ที่อยู่บนและล่างของกราฟกั้นโดยเส้นประ ถ้าพลาสม่า A มีปัจจัยการแข็งตัวของเลือดปรกติ และไม่มี heparin ปนเปื้อน ค่า APTT อยู่ระหว่าง

เส้นประทั้งสอง คือ "a" ซึ่งมี variability ต่ำ ถ้าตัวอย่างพลาสม่ามีความผิดปรกติมากขึ้น (B หรือ C) ค่า APTT จะยาวขึ้น และที่จุด D (a severe hemophilia หรือ a therapeutic level of heparin) ค่า APTT จะเป็น "b" ค่า precision จะอยู่ระหว่าง "c" และ "d" (± 1SD)

จากการใช้รูปแบบนี้ตรวจสอบ sensitivity และ precision พบความเป็นไปได้ 4 combination ด้วยกันดังในรูปที่ 2 combination ที่ดีที่สุดคือ panel A และที่เลวที่สุดคือ panel D การตรวจ APTT ที่ใช้อยู่ ควรเข้าได้กับรูปแบบนี้ และทุกระบบควรจะให้ใกล้เคียง panel A จะดีที่สุด[4]



รูปที่ 2

Critical Aspect of APTT Testing

Specimen Collection and Handling

การเจาะเลือดจากผู้ป่วยจะต้องทำอย่างถูกต้องทางเทคนิค ถ้าเทคนิคไม่ดีจะทำให้ผลที่ได้ผิดพลาด การเจาะเลือดใช้ two-syringe technique เก็บตัวอย่างเลือดในหลอดแก้วพลาสติก หรือ siliconized เนื่องจากหลอดแก้วเหล่านี้ไม่สามารถกระตุ้นระบบการแข็งตัวของเลือด (เช่น contact activation) หรือไม่ทำปฏิกริยากับ anticoagulant[5] และจะใช้เลือดจาก syringe ที่สองมาทดสอบการแข็งตัวของเลือด[6] การทำ two-syringe technique ต้องอาศัยความชำนาญและมีประสบการณ์พอสมควร จึงจะไม่มี tissue thromboplastin ปนเปื้อน

การเจาะเลือด อาจใช้เข็ม butterfly และทิ้งเลือด 2-3 มล.แรก เก็บตัวอย่างเลือดโดยให้หยดลงในหลอดแก้วโดยตรง เลือดควรจะไหลอย่างอิสระและเจาะง่ายไม่มีเนื้อเยื่อได้รับอันตราย[4] ควรหลีกเลี่ยง excess probing, air bubble aspiration, hematoma, sample contamination by tissue fluids, และ prolonged venous stasis ควรเอาสายยางรัดแขนออก เมื่อเลือดไหลดี[6]

ค่า APTT เปลี่ยนแปลงได้ไวมาก ถ้าการเจาะเลือดเทคนิคไม่ดี ค่า APTT ที่ยาวผิดปรกติอาจเป็นผลมาจาก traumatic venipuncture[7] แต่ค่า prothrombin time และ thrombin time มักไม่ไวต่อเทคนิคการเจาะเลือดที่ไม่ดี

เลือดที่ hemolyzed จะทำให้ค่าการแข็งตัวของเลือดสั้นกว่าปรกติ เพื่อหลีกเลี่ยงผลดังกล่าวควรใช้เข็มไม่เล็กกว่าเบอร์ 21 และให้เลือดไหลอย่างอิสระและเอาหัวเข็มออกก่อนที่จะฉีดเลือดลงในหลอดแก้ว[8]

ถ้าดูดเลือดจาก indwelling catheter ควรทิ้ง 20 มล.แรก ถ้าดูดจาก heparinized line ควรทิ้ง 30 มล.แรก การใช้ heparin lock แล้วดูดเลือดจากอีกแขนหนึ่งจะทำให้ค่า APTT ยาวผิดปรกติได้[9] โดยทั่วไปควรเจาะเลือดหลังให้ heparin ครั้งสุดท้ายนาน 4-6 ชั่วโมง[10]

หลังจากเจาะเลือดแล้ว ตัวอย่างเลือดควรแช่ในน้ำแข็ง (melting ice, 4 ± 2°C) แล้วส่งไปห้องปฏิบัติการทันที ปั่นเลือดที่ 1000 xg เป็นเวลา 10 นาที ที่ 4°C แล้วเอาพลาสม่าที่ได้แช่น้ำแข็งหรือในตู้เย็น จนกระทั่งทดสอบ[5] ถ้าทำไม่ได้ดังนี้ จะทำให้ความแน่นอนของการทดสอบคลาดเคลื่อนได้

Choice of Instrument or Method

นอกจากวิธี manual (ทำโดยนักเทคนิคที่ชำนาญและมีประสบการณ์) แล้วมีวิธี instrumental ใช้กันทั่วไปในปัจจุบันนี้มีการใช้เครื่อง automated และ semi-automated กันมากขึ้น ในการทดสอบการแข็งตัวของเลือด[4] เครื่อง Fibromiter เป็นตัวอย่างของเครื่อง semi-automated การเลือกเครื่องมือควรดูราคาของเครื่อง ราคา reagent บริการการซ่อม และปริมาณงานที่ต้องใช้

Choice of Partial Thromboplastin Reagent

สิ่งที่ทำให้ระบบ APTT แตกต่างกันได้มาก คือ partial thromboplastin reagent มี reagent หลายชนิดที่เป็นที่ยอมรับกันทั่วไป แต่ sensitivity ของแต่ละระบบ แตกต่างกัน ได้มีการเปรียบเทียบระบบ APTT ที่ทำแตกต่างกัน 4 ระบบ ตาม precision และ sensitivity ในผู้ป่วยโรคฮีโมฟิเลีย และ heparin monitoring พบว่ามี efficacy แตกต่างกันทั้ง 4 ระบบ[4]

Reagent ต่าง ๆ แบ่งเป็น activator (Kaolin, ellagic and, micronized silica, etc.), lipid (proportions of phospholipids), calcium chloride concentration และ incubation timing วิธีการทำที่แนะนำโดย reagent manufacturer ขึ้นอยู่กับปัจจัยทั้ง 4 อย่างดังกล่าวข้างต้น ฉะนั้น จึงมีทั้งข้อดี และข้อเสียของระบบต่าง ๆ ในปัจจุบันนี้ จึงเป็นการยากที่จะเปรียบเทียบ ค่า APTT ของห้องปฏิบัติการหนึ่งกับห้องปฏิบัติการอื่น ๆ[4]

Interpretation

ค่า APTT ยาวผิดปรกติเมื่อขาด แฟคเตอร์ XII, XI, X, I, VIII, V และ prothrombin และเมื่อมี inhibitor ถ้า fibrinogen ต่ำกว่า 60 มก./ดล. การทดสอบนี้จะผิดปรกติ และยังพบได้ถ้า fibrinogen สูงมาก ๆ หรือมี fibrin split product, heparin หรือ protamine sulfate อยู่ ค่า APTT ที่สั้นกว่าปรกติพบในภาวะเทคนิคการเจาะเลือดไม่ดี มีเกร็ดเลือดปนเปื้อน มีระดับแฟคเตอร์ VIII สูง ๆ และในภาวะ disseminated intravascular coagulation

ค่าปรกติของ APTT เปลี่ยนแปลงไปตามเทคนิคที่ทำ และ reagent ที่ใช้ ควรหาค่าปรกติใหม่ เมื่อใช้ชุดของ reagent ใหม่ การใช้เครื่อง automated จะมีค่าปรกติช่วงแคบกว่าวิธี manual ค่า APTT มักจะปรกติถ้าระดับของแฟคเตอร์ VIII หรือ IX อยู่ระหว่างร้อยละ 40-50 ของระดับปรกติ เนื่องจากการทดสอบ APTT มีความไวสูงจึงมีค่าแตกต่างกันได้มาก ๆ ในระหว่างห้องปฏิบัติการต่าง ๆ[11]

เมื่อตรวจพบค่า APTT ผิดปรกติขั้นต่อไปควรทำ mixing study ด้วยการใช้พลาสม่าปรกติจำนวนเท่า ๆ กับผสมกัน (1 : 1) แล้วทำ APTT ใหม่ เพื่อดูว่าไม่มี inhibitor อยู่ ถ้ามี inhibitor อยู่ ค่า APTT ที่ได้ใหม่จะยาวกว่าค่าเดิมอย่างน้อย 6 วินาที แต่ถ้าเป็น weak inhibitor การทำแบบนี้จะวินิจฉัยไม่ได้[11]

Pitfalls in APTT testing

การทดสอบหาค่า APTT นานเท่าใดก็ยิ่งพบปัญหาและการแก้ปัญหาได้มากขึ้น เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการคงจะทราบได้ทั่วกัน ปัญหาที่จะกล่าวถึงในที่นี้คือ

1. ภาวะที่ฮีมาโตคริตสูง และมี anticoagulant มาก

2. ไม่ได้แช่ตัวอย่างเลือดที่ได้ในน้ำแข็ง และการแยกพลาสม่า

3. มี heparin ปนเปื้อนโดยไม่ได้คาดคิดไว้ก่อน (heparin lock)

ผู้ป่วยที่มีฮีมาโตคริตสูง อาจมีผลทำให้ค่า PT และ APTT ยาวผิดปรกติได้ เนื่องจากมีปริมาณของ anticoagulant มากเมื่อเทียบกับพลาสม่าที่มีจำนวนน้อย จึงควรปรับปริมาณของ anticoagulant ตามค่าฮีมาโตรคริต โดยเฉพาะเมื่อฮีมาโตคริตมากกว่า 60% และน้อยกว่า 20% ค่าความเข้มข้นของ citrate ควรจะเท่ากับ 0.64% ในพลาสม่า ซึ่งอาจคิดจากสมการดังต่อไปนี้

volume of anticoagulant (ml) = 0.00185 x volume of blood (ml) x (100-Hct)

สาเหตุของ spurious APTT prolongation (Pre-instrumental)[10]

1. Improper anticoagulation of specimen
   - Poor mixing with anticoagulant
   - Polyeythemic sample (over-anticoagulation)
2. Unexpected heparinization (e.g. heparin locks)
3. Inadeguate storage conditions

Quality Assurance Method[4]

Quality control ของการทดสอบหาค่า APTT แตกต่างกันจากห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ซึ่งขึ้นอยู่กับปริมาณงานที่จะต้องทำ และ APTT system ที่ใช้ (เครื่องมือและ reagent) การทดสอบทำโดยผู้ที่มีประสบการณ์น้อยไม่ได้ทำอยู่เป็นประจำ ซึ่งอาจต้องทำ control ร่วมไปกับ sample ทุกครั้ง หรือในห้องปฏิบัติการใหญ่ ๆ อาจทำ control ในวันนั้นครั้งเดียวก็เพียงพอ

การทำ duplicate ทุกครั้ง จะช่วยควบคุมคุณภาพได้ แต่ห้องปฏิบัติการโดยมากไม่ทำกัน ซึ่งอาจไม่คุ้มค่าที่จะทำ ถ้าห้องปฏิบัติการนั้นได้มีการสุ่มตัวอย่างดูความผิดพลาดแล้ว พบน้อย การทำ duplicate อาจไม่จำเป็น

ระดับ procoagulant ใน control plasma อาจไม่ไวต่อการทดสอบ เนื่องจากต้องใส่สาร stabiliation บางอย่างลงไป ไม่เหมาะกับระบบที่ใช้ทดสอบ APTT ที่ใช้อยู่ จะจำเป็นหรือไม่ที่จะต้องทำทั้ง normal และ abnormal control ควบคู่กันไป ฉะนั้น ระบบ Quality Assurance ที่ดี ควรประกอบด้วย duplicate testing, Plasma Controls (fresh, fresh frozen, lyophilized), level of controls (normal, abnormal)

เอกสารอ้างอิง

1. Langdell RD, Wanger RH, Brinkhous KM. Effect of antihemophilic factor on one-stage clotting test. J Lab Clin Med 1953 ; 41 : 637.
2. Banez EL, Triplett DA, Koepke J. Laboratory monitoring of heparin therapy-the effect of different salts of heparin on the activated partial thromboplastin time. Am J Clin Pathol 1980 ; 74 : 569-674.
3. Koepke JA. The partial thromboplastin time in the CAP survey program. Am J Clin Pathol 1975 ; 63 : 990-4.
4. Koepke JA. Partial thromboplastin time. ASCP Check Sample 1982.
5. The National Committee for Clinical Laboratory Standards Area Committee on Hematology, Subcommitte on coagulation. Guidelines for the collection, transport and preparation of blood specimens

for coagulation testing. Villanova, PA, 1981 : 10-11.

6. McGann MA, Triplett DA. Quality Control in the Coagulation Laboratory. ASCP Check Sample. 1983.
7. McPhedran P, Clyne LP, Ortoli NA, et al. Prolongation of the activated partial thromboplastin time associated with poor venipuncture technique. Am J Clin Pathol 1974 ; 62 : 16-20.
8. Harms CS. Coagulation pretesting variables and quality control. In : Triplett DA, ed. Laboratory Evaluation of Coagulation. Chicago : American Society of Clinical Pathologists, 1982 : 350-66.
9. Thomas LT, O'Nrill TJ, Tierney LM Jr, Proulx RJ. Heparin lock-induced alterations in the activated partial thromboplastin time. JAMA 1974 ; 227 : 1297-8.
10. Czapek EE. Iatrogenic prolonged APTT : a nondisease state. JAMA 1974 ; 227 : 1304.
11. Hougic C. Partial thromboplastin time tests. In Williams WJ, Beutler E, Erslev AJ, Lichtman MA. eds. Hematology 4th edition. New York : McGraw-Hill Publishing Company 1990 : 1766-8.