

**A STUDY OF ELUTING IgG ANTIBODIES FROM RED BLOOD  
CELLS: THE COMPARISON FOUR ELUTION TECHNIQUES**

The image features a large, faint watermark of the Mahidol University logo in the background. The logo is circular with a gold border and contains a central emblem with Thai script. The text 'KALLAYA KIRDKOUNGAM' is centered over the logo.

**KALLAYA KIRDKOUNGAM**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE  
OF MASTER OF SCIENCE  
(TRANSFUSION SCIENCE)**

**FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY**

**2008**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการอีลูชัน 4 วิธี ซึ่งใช้ในการดึงแอนติบอดีชนิดไอจีจีออกจากเม็ดโลหิตแดง (A STUDY OF ELUTING IgG ANTIBODIES FROM RED BLOOD CELLS: THE COMPARISON FOUR ELUTION TECHNIQUES)

กัลยา เกิดแก้วงาม 4837191 SITS/M

วท.ม. (วิทยาศาสตร์การบริการโลหิต)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : วิโรจน์ จงกลวัฒนา พ.บ., ศศิจิต เวชแพทย์ Dr. Med.

### บทคัดย่อ

การศึกษานี้เพื่อเปรียบเทียบวิธีการอีลูชัน 4 วิธี ได้แก่ ชุดน้ำยาที่เตรียมขึ้นเอง (In house Acid/EDTA) ชุดน้ำยาสำเร็จรูป (DiaCidel Elution Kit) การอีลูชันด้วยความร้อนที่ 56 องศาเซลเซียส (Heat 56 °c) และ การอีลูชันด้วยอีเธอร์และความร้อนที่ 37 องศาเซลเซียส (Heat-Ether 37 °c) เพื่อดึงแอนติบอดีออกจากเม็ดโลหิตแดง ที่มีสภาวะทดสอบให้ผลบวกกับน้ำยาแอนติโกลบูลินซีรัม (DAT) แอนติบอดีจำนวน 175 ตัวอย่าง ได้มาจากผู้บริจาคโลหิตและผู้ป่วยที่ได้รับโลหิตบ่อยครั้ง นำเซลล์เม็ดโลหิตแดงซึ่งทราบว่ามีชนิดแอนติเจนตรงกับชนิดของแอนติบอดีนั้น ๆ มาทำการทำปฏิกิริยาให้เกิดการเกาะติดของแอนติบอดีกับเม็ดโลหิตแดง หลังจากนั้นทำการอีลูชันด้วยวิธีการทั้งสี่ข้างต้น ของเหลวที่ได้หลังจากการอีลูชันด้วยวิธีการทั้งสี่นั้นนำมาทดสอบหาความแรงของแอนติบอดีด้วยวิธีไตเรซัน ค่าเฉลี่ยของคะแนนที่ได้นำมาคำนวณทางสถิติด้วยวิธี paired t-test โดยใช้โปรแกรม SPSS

ผลการศึกษาพบว่าในหมู่โลหิตระบบ Rh, Kidd และ Diego นั้น วิธีการอีลูชันด้วยอีเธอร์และความร้อนที่ 37 องศาเซลเซียส ให้ผลคะแนนสูงที่สุด เหนือกว่าวิธีอื่น ๆ ส่วนในหมู่โลหิตระบบ MNSs สำหรับ Anti-Mi<sup>a</sup> นั้น ให้ผลที่แตกต่างกันไปเล็กน้อยคือ ชุดน้ำยาที่เตรียมขึ้นเอง และชุดน้ำยาสำเร็จรูป ให้ค่าเฉลี่ยของคะแนนสูงกว่าวิธีการอีลูชันด้วยอีเธอร์และความร้อนที่ 37 องศาเซลเซียส แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) สำหรับชุดน้ำยาที่เตรียมขึ้นเอง และน้ำยาสำเร็จรูปนั้น พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในประสิทธิภาพของการอีลูชัน ส่วนวิธีการอีลูชันด้วยความร้อนที่ 56 องศาเซลเซียสนั้น พบว่าด้อยที่สุดในทุก ๆ ชนิดของแอนติบอดีเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่น ๆ

ผลสรุปของการศึกษานี้คือ วิธีการอีลูชันด้วยอีเธอร์และความร้อนที่ 37 องศาเซลเซียสให้ผลคะแนนสูงที่สุด อย่างไรก็ตามอีเธอร์เป็นสารเคมีที่มีพิษจึงเป็นอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงานและมีผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นจึงไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ ชุดน้ำยาสำเร็จรูปเป็นวิธีการที่น่าสนใจแต่มีราคาแพง ในทางตรงกันข้ามชุดน้ำยาที่เตรียมขึ้นเอง มีราคาถูกกว่ามาก อีกทั้งยังมีประสิทธิภาพเท่ากับชุดน้ำยาสำเร็จรูป จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่เหมาะสมจะนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการ

**A STUDY OF ELUTING IgG ANTIBODIES FROM RED BLOOD CELLS: THE COMPARISON FOUR ELUTION TECHNIQUES.****KALLAYA KIRDKOUNGAM 4837191 SITS/M****M.Sc. (TRANSFUSION SCIENCE)****THESIS ADVISORS: VIROJE CHONGKOLWATANA, M.D.,  
SASIJIT VEJBAESYA, Dr. Med. (Transplantation).****ABSTRACT**

The objective of this study was to compare in house Acid/EDTA, DiaCidel Elution Kit, Heat 56 °c and Ether for eluting antibodies from DAT positive red blood cells. Antibody elution was performed on 175 samples from donors and patients. They were sensitized with corresponding red blood cells that had were used known antigen profiles. After that, they were eluted by four techniques of elution. The four eluates were tested for antibody titration and the titration mean scores were calculated for paired t-test statistical analysis by SPSS version 13.0.

The results in Rh, Kidd and Diego systems showed that the Ether was the best method that giving highest the yields and better than other methods. The MNSs system, for Anti-Mi<sup>a</sup> In house Acid/EDTA and DiaCidel Elution Kit gave higher mean scores than Ether but will no statistical significant ( $p>0.05$ ). In house Acid/EDTA and DiaCidel Elution Kit were no different in their elution efficiency. Heat elution gave the lowest yield in every test.

In summary, although Ether was the method that gave the highest yield but it is very toxic and hazardous for workers in blood bank and for the environment in general so it is not the best method to use in the laboratory. DiaCidel Elution Kit is good method but it is very expensive. On the other hand, in house Acid/EDTA has a very low price but is as good as the DiaCidel elution kit in elution. Therefore, it is a method that should be considered for use in-house Acid/EDTA in the laboratory.

Currently, blood elution laboratories in Thailand use DiaCidel elution. However, this method is very expensive. Therefore, it is necessary to seek alternatives methods.

**KEY WORDS: ELUTION / DAT / Acid/EDTA**

91 pp.