



- 8 ม.ย. 7532

THE QUANTITATION OF PLATELET-ASSOCIATED IgG (PAIgG),  
PLATELET-ASSOCIATED IgM (PAIgM), PLATELET-BINDABLE IgG (PBIgG)  
AND PLATELET-BINDABLE IgM (PBIgM)  
BY ENZYME LINKED ANTIGLOBULIN CONSUMPTION TEST (ELACT)

YUTTANA MUNDEE

๔

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULLFILLMENT OF  
THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE  
( CLINICAL PATHOLOGY )

IN  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY

1988

ออกนันทนาการ

๑๓

Faculty of Graduate studies

12462

- ชื่อวิทยานิพนธ์ : การตรวจวัดปริมาณ PAIgG, PAIgM, PBIgG และ PBIgM โดยวิธี  
Enzyme Linked Antiglobulin Consumption Test (ELACT)
- ผู้วิจัย : มุทธนา หมั่นดี
- ปริญญา : วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พยาธิวิทยาคลินิก)
- คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : คิมล เชี่ยวศิลป์ พ.บ.  
สมเนตร บุญพรรณนาวิภ พ.บ.  
เบญจะ เพชรคล้าย พ.บ.  
วิรัช อคิชาตการ พ.บ.  
วันชัย วนะชีวานาวิภ พ.บ.
- วันที่สำเร็จการศึกษา : ๒๔ พฤศจิกายน ๒๕๓๑

#### บทคัดย่อ

วิธี enzyme linked antiglobulin consumption test (ELACT) ได้รับการพัฒนาขึ้นมาเพื่อตรวจวัดปริมาณของ platelet-associated IgG (PAIgG), platelet-associated IgM (PAIgM), platelet-bindable IgG (PBIgG) และ platelet-bindable IgM (PBIgM) หลักการของวิธีนี้คือ ให้นำ immunoglobulin ในเกร็ดเลือดที่ละลายแล้ว จับกับ antiglobulin ติดสลาไก enzyme (conjugate) ให้นำ conjugate ที่เหลือไปจับกับ immunoglobulin ที่ติดอยู่บนหลุมในถาดพลาสติก แล้ววัดปริมาณ enzyme ในหลุมบนถาดพลาสติกด้วยปฏิกิริยาการเกิดสีของ substrate ค่าความทึบแสงของสีที่เกิดขึ้น สามารถเปลี่ยนไปเป็นปริมาณ immunoglobulin บนเกร็ดเลือดได้โดยการเทียบกับเส้นโค้งมาตรฐานที่สร้างขึ้น จากการวัด immunoglobulin มาตรฐานที่ทราบค่าความเข้มข้น โดยวิธีนี้พบว่า ค่า reproducibility และ sensitivity ดี, ค่า coefficient of variation percent ในแบบ within run ไม่เกินร้อยละ ๑๐ และในแบบ between run ไม่เกินร้อยละ ๒๐ ค่า percent expectation ในแบบ within run ไม่ออกนอกช่วงร้อยละ ๕๕ - ๑๐๕ และในแบบ between run ไม่ออกนอกช่วงร้อยละ ๕๐ - ๑๑๐ วิธีนี้มี sensitivity หรือความสามารถในการตรวจวัดปริมาณได้ต่ำที่สุด ๐.๒๕ fg/plt ทั้ง

immunoglobulin G และ M, PAIg คือ antibody ต่อ เกร็ดเลือดที่เกาะกับเกร็ดเลือดมาแล้วตั้งแต่อยู่ในร่างกาย (direct antiglobulin test) ในขณะที่PBIg เป็น antibody ต่อเกร็ดเลือดที่ถูกนำมาหาปฏิกิริยา ให้เกาะกับเกร็ดเลือดในหลอดทดลอง (indirect antiglobulin test) ได้ใช้วิธี ELACT ตรวจวัดปริมาณ PAIgG, PBIgG, PAIgM และ PBIgM ในคนปกติ ได้เท่ากับ  $4.1 \pm 2.6$ ,  $4.3 \pm 2.3$ ,  $1.2 \pm 1.0$  และ  $3.1 \pm 1.8$  fg/plt ตามลำดับ และได้ทำการตรวจวัดปริมาณของ antibody ต่อเกร็ดเลือดทั้งสี่ชนิดนี้ ในผู้ป่วยโรคต่างๆ ดังนี้คือ ITP, SLE, AIHA, LPD, multiple transfusion และโรคอื่นๆ ระดับของ antibody ต่อเกร็ดเลือดสามารถบอกความรุนแรงของโรค และทำให้เข้าใจพยาธิสภาพของโรคเหล่านี้ดียิ่งขึ้น



Thesis Title : The quantitation of platelet-associated IgG (PAIgG), platelet-associated IgM (PAIgM), platelet-bindable IgG (PBIgG) and platelet-bindable IgM (PBIgM) by enzyme linked antiglobulin consumption test (ELACT)

Name : Yuttana Munde

Degree : Master of science (Clinical Pathology)

Thesis Supervisory Committee : Pimol Chiewsilp, M.D.  
Somnate Boonpucknavig, M.D.  
Bencha Petchclai, M.D.  
Vichai Atichartakarn, M.D.  
Wanchai Wanachivanawin, M.D.

Date of Graduation : November 24, 1988

#### ABSTRACT

The enzyme linked antiglobulin consumption test (ELACT) was developed to quantitate the values of platelet-associated IgG (PAIgG), platelet-associated IgM (PAIgM), platelet-bindable IgG (PBIgG) and platelet-bindable IgM (PBIgM) in normal subjects and various diseases. The principles of ELACT were as follows. The immunoglobulin in solubilized platelet was allowed to bind to enzyme conjugate antiglobulin. The remaining conjugate was then adsorbed onto the immunoglobulin coated polystyrene plate and quantitated by enzyme substrate color reaction. The absorbance of color was converted to the value of immunoglobulin on platelet by using standard curve, which was performed in the same run with standard known concentration of immunoglobulin. This method

showed good reproducibility and high sensitivity. The within run coefficient of variation percent (% CV) were within 10 %, and between run were within 20 %. The within run percent of expectation (% Ex) were within the range of 95-105 %, and between run % Ex were within the range of 90-110 %. The sensitivity of this method was 0.25 fg/plt, for both IgG and IgM. The platelet-associated immunoglobulin (PAIg) was the platelet-antibody, which reacted with platelet in vivo (platelet direct antiglobulin test); while the platelet-bindable immunoglobulin (PBIg) was the platelet-antibody in plasma, which could react with platelet in vitro (platelet indirect antiglobulin test). The normal values of PAIgG, PBIgG, PAIgM and PBIgM were  $5.1 \pm 2.6$ ,  $5.3 \pm 2.3$ ,  $1.2 \pm 1.0$  and  $3.1 \pm 1.8$  fg/plt, respectively. These four platelet-antibodies in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura, systemic lupus erythematosus, autoimmune hemolytic anemia, lymphoproliferative disorders, multiple transfusion and other diseases were quantitated. Their values were useful in understanding the pathophysiologic process and following activity of the diseases.