



ABO 혈액형 항체 역가 측정을 위한 적혈구 부유액의 제조 조건

Optimum Conditions for the Preparation of Red Blood Cell Suspensions for ABO Antibody Titration

강선주 · 조성란 · 임영애

Seon Joo Kang, M.D., Sung Ran Cho, M.D., Young Ae Lim, M.D.

아주대학교 의과대학 진단검사의학교실

Department of Laboratory Medicine, Ajou University School of Medicine, Suwon, Korea

Background: There is significant inter-laboratory variation in the ABO antibody (Ab) titer levels of blood samples because a standardized method has not yet been developed. The aim of this study was to identify the best conditions for the preparation of the red blood cell (RBC) suspensions so as to aid the development of a standard ABO Ab titration method.

Methods: Serum samples from apparently healthy adults and RBCs from three different sources (residual EDTA blood from healthy adults, donor blood in citrate-phosphate-dextrose-adenine-1 [CPDA-1], and a commercially available RBC reagent) were used for Ab titrations. We measured the titers for each blood group under various conditions, including the time period of storage (days), the ratio of serum to RBC volume, and the RBC sources. The techniques for room temperature incubation and the indirect antiglobulin test were used for the tube and the gel card test.

Results: A storage period of 6 to 7 days significantly affected the Ab titers. Samples with 3% RBCs in a 1:1 serum to RBC volume ratio had significantly lower Ab titers than those with 2% RBCs in a 1:1 ratio or those with 3% RBCs in a 2:1 ratio. There were no significant differences in the Ab titers of RBCs from different sources.

Conclusions: To reduce inter-laboratory variations in ABO Ab titrations, using RBC suspension within five days of storage and applying ratio of serum to RBC volume to 2:1 with 3% RBC in the tube test will be helpful when using home-made RBC suspension.

Key Words: ABO blood group system, Titer, Red blood cell, Suspension

서 론

ABO 항체 역가는 ABO 부적합골수이식의 예후평가 및 최근에 증가하고 있는 ABO 부적합장기이식에서도 환자 처치를 결정하는 중요한 지표로 사용되고 있어 검사 빈도가 증가하고 있다. 그러나

Corresponding author: Young Ae Lim

Department of Laboratory Medicine, Ajou University School of Medicine, 164 World cup-ro, Yeongtong-gu, Suwon 443-721, Korea
Tel: +82-31-219-5786, Fax: +82-31-219-5778, E-mail: limyoung@ajou.ac.kr

Received: January 6, 2014
Revision received: March 11, 2014
Accepted: April 10, 2014

This article is available from <http://www.labmedonline.org>
© 2015, Laboratory Medicine Online
© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

측정방법이 다양하고 표준화되어 있지 않으므로 각 검사기관마다 다른 방법을 사용하고 있으며 이로 인하여 검사실 간의 결과치의 차이가 심하다.

역가측정은 반정량적 방법으로서 기술적인 변수가 결과에 큰 영향을 줄 수 있다[1]. 따라서 이러한 영향을 줄이기 위한 노력으로 는 많은 양의 희석 검체를 준비하고 일회용 피펫 팁을 사용하여 각 각의 희석단계에서 새 것을 사용하도록 권장하고 있다. 또한 응집 을 판독함에 있어서도 보다 정확한 결과를 위하여 모든 시험관의 응집강도를 숫자의 합으로 표현한 점수로 표시하는 방법도 제시되 고 있다. 일본 ABO 부적합이식위원회에서 시험관법의 기준안을 제안하여 기관 간의 역가 차이를 많이 감소시켰다고 하였다. 그 내 용으로는 적혈구 부유액 농도, 적혈구와 혈청 비율, 혈청 처리, 반응 조건 및 원심침전 시간을 IgM법과 IgG법으로 구분하여 제시하 였다[2].

국내에서도 ABO항체 역가 측정에 있어서 가장 널리 이용되는

시험관법은 기관 간 결과 차이가 크지만 아직까지 검사법의 표준화에 대한 참고자료가 미비한 실정이다. 이에 연구자들은 대한임상검사정도관리협회 용역연구과제로 국내 검사실의 ABO 항체 역가검사법의 표준화수립을 위한 연구를 수행하였으며, 이 과제의 일환으로 ABO 동종응집소역가 결과값에 영향을 미치는 검사요인 중 적혈구 부유액의 제조조건에 대하여 평가하여 적혈구 부유액의 기준을 제시함으로써 측정방법의 표준화에 기여하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 연구대상

2012년 9월부터 12월까지 아주대학교병원에서 건강검진을 받은 성인의 검사 시행 후 폐기 예정인 잔여혈청과 ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) 잔여 혈구검체를 이용하였다. A형, B형, O형의 항체역가를 여러 조건에서 측정하여 비교하고 개인 간 변이를 감소시키기 위해서 혈청은 동일 혈액형의 3명 이상의 검체를 혼주한 다음 소량씩 나누어 -70°C에서 보관하였다.

혈구는 3가지 종류를 이용하였는데 citrate-phosphate-dextrose-adenine-1 (CPDA-1) 농축적혈구백의 관분절액 (이하 CPDA-1 혈구), EDTA 잔여검체 (이하 EDTA 혈구) 그리고 상품화된 적혈구 DiaCell ABO (DiaMed GmbH, Cressier, Switzerland)를 사용하였다. 혈구도 개인 간 변이를 감소시키기 위하여 CPDA-1 혈구와 EDTA 혈구는 3개의 검체를 각각 혼주하여 사용하였다. 사용한 CPDA-1 혈액백 관분절액은 제조일로부터 2주 이내, EDTA 혈구는 채혈일로부터 2일 이내의 검체를 선택하였다.

본 연구는 아주대학교 병원 기관연구윤리심의위원회(Institutional review board)의 승인을 받았다(Med-KSP-12-236).

2. 항체 역가 측정

우선 검체를 희석하기 위해 시험관을 10개 준비하여 모든 시험관에 생리식염수를 200 µL씩 분주하고 첫째 시험관에 피검혈청 200 µL를 넣어 피펫으로 잘 혼합한 후 200 µL씩 다음 시험관으로 옮기는 방법으로 연속 배수 희석하여 준비하였다. 혈청과 반응할 혈구는 충분한 양의 생리식염수에 3회 세척 후 3% 농도에 맞춘 적혈구 부유액을 기본으로 하여 측정법 및 분석 대상에 따라 그대로 사용하거나 생리식염수로 추가 희석하여 2%와 0.8%로 제조하여 사용하였다.

1) 시험관법

실온법은 연속 배수 희석된 검체를 다른 시험관 10개에 각각 100 µL씩 넣은 후 A형 혹은 B형 3% 적혈구 부유액을 50 µL씩 혼합하여 실온에서 30분 반응시키고 3,400 rpm에서 15초 원심침전하

여 응집을 관찰하였다. 간접항글로불린법은 실온법 판독 후 잘 흔들어서 섞은 시험관을 37°C에서 30분 반응시키고 생리식염수로 4회 세척 후 항글로불린 50 µL를 떨어뜨려 잘 혼합한 후에 마찬가지로 원심 침전하여 응집을 관찰하였다. 판독은 약양성과 '1+' 응집을 보이는 최고희석배수를 각각 구분하여 역가를 기록하였다.

2) 원주응집법

겔카드의 각 미세시험관에 A형 혹은 B형 0.8% 적혈구 부유액을 50 µL, 연속 배수 희석된 검체를 25 µL씩 넣고 15분간 반응 후 전용 원심분리기에서 10분간 원심 침전하여 응집을 관찰했다. 실온법의 경우 ID-Card NaCl, Enzyme Test and Cold Agglutinins (Dia-Med AG, Cressier, Switzerland)를 이용하여 실온에서 반응시켰고 항글로불린법의 경우 ID-Card LISS/Coombs (Dia-Med AG)를 이용하여 37°C에서 반응시켰다. 판독은 약양성과 '1+' 응집을 보이는 최고희석배수를 각각 구분하여 역가를 기록하였다.

3. 분석방법

1) 적혈구 부유액의 보관일

적혈구 부유액을 제조 후 시간에 따라 결과값의 차이가 생기는지 알아보기 위해 CPDA-1 혈구 부유액을 제조한 날로부터 각각의 측정방법으로 동일한 검체에 대하여 7일간 연속 측정하였다. 각 혈액형 별로 시험관법은 총 20개, 겔카드법은 총 10개의 검체에 대하여 실시하였다.

2) 검체와 적혈구 용량 비율

시험관법에서 검체와 적혈구 용량의 비율에 따른 영향을 보기 위해 동일한 검체에 대하여 CPDA-1 혈구 부유액을 각각 검체 동량(100 µL)의 2% 혈구, 검체 반량(50 µL)의 3% 혈구, 검체 동량(100 µL)의 3% 혈구로 나누어 각 40회씩 측정하여 값을 비교하였다.

3) 적혈구 종류

시험관법에서 적혈구의 종류를 EDTA 혈구, CPDA-1 혈구 및 상품 적혈구로 하였을 때 결과값의 차이가 있는지 살펴보기 위해서 동일한 검체를 다른 적혈구 부유액으로 5회씩 측정하여(상품 혈구의 경우 반복 측정) 각 군당 60회씩 측정하였다.

4) 0.8% 적혈구 부유액 제조법

겔카드법에 사용하는 0.8% 적혈구 부유액 제조법에 따른 영향을 알아보기 위해 CPDA-1 혈구 부유액을 0.9% 생리식염수로 제조한 것, 저이온염용액(low ionic strength saline, LISS) 성분의 전용 희석액(ID-Diluent 2, Dia-Med AG)을 사용한 것, 생리식염수를 사용한 3% 적혈구 부유액을 전용희석액으로 추가 희석한 것 세 가지

군으로 나누어 측정하였고 각 8회씩 측정하였다.

4. 통계분석

ABO 항체 역가를 희석 단계로 표시하여 통계분석을 하였으며 프로그램은 Excel (Microsoft Corporation, WA, USA)과 SPSS version 12.0.1 for Window (SPSS, Chicago, USA)를 이용하였다. 적혈구 종류에 따른 결과값 비교는 Kruskal-Wallis test로 분석하였고 연관성이 있는 자료들을 비교한 나머지 경우 모두 Friedman test 시행 후 사후검정으로 Wilcoxon signed rank test (Bonferroni correction 사용)를 시행하였다. P값이 0.05 미만일 때 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. 대상군 검체의 특징

혈청 대상군의 연령은 평균 47.1세로 26세부터 74세까지 분포하였으며, 혈구 대상군의 연령은 평균 46.9세로 30세부터 69세까지 분포하였다.

2. 적혈구 부유액 보관일

적혈구 부유액 제조 후 동일 적혈구 부유액으로 연속 7일간 측정 한 ABO항체 역가의 중앙값은 Table 1 및 Table 2와 같다. 시험관법에서 실온법으로 측정 한 역가는 판독기준 '1+' 응집일 때 6일

(P=0.005)과 7일(P<0.001)에, 약양성일 때 6일(P=0.001)과 7일(P<0.001)에는 1일째부터 측정 한 역가들과 유의한 차이를 보였다. 간접항글로불린법의 경우 판독기준이 '1+' 응집일 때는 1일째부터 7일째까지 측정 한 값 사이에 유의한 차이가 없었으나 약양성 기준 판독 시 7일째부터 역가에 유의한 차이를 보였다(P=0.033, Table 1).

겔카드법은 실온법과 간접항글로불린법 모두 '1+' 응집 기준 판독 시 7일째까지 결과의 유의한 차이가 없었다. 그러나 약양성으로 판독할 경우 5일째부터 유의한 차이가 있음을 확인하였다. 즉 실온법 5일(P=0.006), 6일(P=0.007), 7일(P=0.001)과 간접항글로불린법 5일(P=0.009), 6일(P=0.015), 7일(P=0.016)에 측정 한 역가는 1일째부터 측정 한 역가들보다 유의하게 낮은 값을 보였다(Table 2).

3. 검체와 적혈구 용량 비율

시험관법에서 실온법 및 간접항글로불린법 모두 판독기준에 상관없이 검체 동량(100 µL)의 3% 혈구로 측정 한 역가가 검체 동량(100 µL)의 2% 혈구와 검체 반량(50 µL)의 3% 혈구로 측정 한 역가에 비해 유의하게 낮은 결과를 보였다(P<0.001, Table 3).

4. 적혈구 종류

시험관법에서 실온법 및 간접항글로불린법 모두 판독기준과 상관없이 EDTA 혈구, CPDA-1 혈구 및 상품 적혈구를 사용했을 때의 ABO 항체 역가는 유의한 차이가 없었다(Table 4).

Table 1. Relationship between median values of the ABO antibody titer step and the storage day of RBC suspension in the tube test

Blood group	Antibody	N	Room temperature incubation														Indirect antiglobulin test													
			1+ agglutination							w+ agglutination							1+ agglutination							w+ agglutination						
			Day	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6
A	Anti-B	5	3	3	3	4	4	3	3	4	5	4	5	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	4
B	Anti-A	5	4	4	4	4	4	3	3	4	5	5	5	5	4	4	4	4	4	3	3	3	3	5	4	5	4	4	4	4
O	Anti-A	5	5	5	5	5	5	4	3	5	6	6	6	5	5	4	6	6	6	6	5	6	6	7	6	7	6	7	7	6
O	Anti-B	5	4	4	4	5	4	4	3	5	5	5	5	5	5	4	6	6	6	6	6	6	6	7	7	6	7	6	7	7
	Total	20	4	4	4	4	4	4	3*	5	5	5	5	5	5*	4*	6	6	6	6	5	6	6	7	6	6	6	6	7	6†

*P<0.01 vs. from the first day by the Friedman test; †P<0.05.

Table 2. Relationship between median values of the ABO antibody titer step and the storage day of RBC suspension in the gel test

Blood group	Antibody	N	Room temperature incubation														Indirect antiglobulin test													
			1+ agglutination							w+ agglutination							1+ agglutination							w+ agglutination						
			Day	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6
A	Anti-B	1	2	2	2	2	1	1	1	3	2	2	2	1	2	1	2	3	2	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2
B	Anti-A	3	2	2	2	2	2	2	1	2	2	3	2	2	2	2	3	4	3	4	3	4	3	4	3	3	3	3	3	3
O	Anti-A	3	3	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	7	8	7	8	7	8	7	7	7	7	7	8	7	7
O	Anti-B	3	4	3	3	3	3	3	3	4	3	4	4	3	4	3	6	7	6	7	6	7	6	7	7	7	7	7	7	7
	Total	10	3	3	3	3	3	3	3	4	3	4	4	3*	4*	3*	6	7	6	7	6	7	6	7	6	7	6	7*	6*	7*

*P<0.01 vs. from the first day by the Friedman test.

Table 3. Relationship between median values of the ABO antibody titer step and ratio of serum to red blood cell volume in the tube test

Blood group	Antibody	N	Room temperature incubation						Indirect antiglobulin test						
			S/R ratio	1+ agglutination			w+ agglutination			1+ agglutination			w+ agglutination		
				2%	3%	3%	2%	3%	3%	2%	3%	3%	2%	3%	3%
				1:1	2:1	1:1	1:1	2:1	1:1	1:1	2:1	1:1	1:1	2:1	1:1
A	Anti-B	10	4	4	3	5	5	4	4	4	4	5	5	5	
B	Anti-A	10	4	5	4	5	6	5	4	4	4	5	5	5	
O	Anti-A	10	5	5	4	5	6	5	6	6	5	7	7	6	
O	Anti-B	10	5	4	4	6	5	5	6	6	5	7	7	6	
Total		40	4*	4*	4	5*	5*	5	5*	5*	5	6*	6*	6	

*P<0.001 vs. 3% with 1:1 by the Friedman test and Wilcoxon signed rank test.
Abbreviation: S/R ratio, volume ratio for serum:RBC suspension.

Table 4. Relationship between median values of the ABO antibody titer step and three RBC sources in the tube test

Blood group	Antibody	N	Room temperature						Indirect antiglobulin test						
			RBC	1+ agglutination			w+ agglutination			1+ agglutination			w+ agglutination		
				EDTA	CPDA-1	CP	EDTA	CPDA-1	CP	EDTA	CPDA-1	CP	EDTA	CPDA-1	CP
				4	4	4	5	5	4	4	4	4	5	5	5
A	Anti-B	15	4	4	4	5	5	4	4	4	4	5	5	5	
B	Anti-A	15	4	4	4	5	5	5	4	4	4	5	5	4	
O	Anti-A	15	4	4	4	5	5	5	6	6	6	7	6	7	
O	Anti-B	15	4	4	5	5	5	5	6	6	6	7	7	6	
Total		60	4	4	4	5	5	5	5	5	6	6	6	6	

There were no significant differences between ABO antibody titers and three RBC sources (Kruskal-Wallis test).
Abbreviations: CPDA-1, citrate-phosphate-dextrose-adenine-1; CP, commercialized product.

5. 0.8% 적혈구 부유액 제조법

세 가지 방법으로 제조한 0.8% CPDA-1 혈구 부유액은 겔카드법으로 역가를 비교했을 때 실온법 및 간접항글로불린법 모두 판독 기준에 상관없이 결과에 유의한 차이가 없었다.

고찰

ABO 부적합장기이식은 혈장교환술과 면역억제치료의 발전 및 장기이식의 수요에 대한 공급 불균형으로 인하여 증가하는 추세이나 아직까지 ABO 항체 역가의 기관 간 결과값 차이라는 해결되지 않는 문제를 안고 있다. 시험관법은 가장 많이 이용되는 방법임에도 불구하고 표준법의 미비로 인하여 검사실 간 결과값 차이가 가장 크게 나는 측정방법인데, 그 예로 국내의 4개 의료기관에서 ABO 항체역가를 비교했을 때 IgM 역가 및 IgG 역가가 최대 16배와 32배의 차이를 보인 것으로 보고되었다[3]. 29개 기관을 대상으로 실시한 일본의 보고에서도 IgM 역가는 최대 32배, IgG 역가는 최대 25배 차이가 있었다고 하였다[2]. 검사를 반복 실행했을 때 기법의 차이와 생물학적 변동성에 따라 양방향으로 한 배수의 차이는 있을 수 있으나 3개 배수(8배) 이상은 의미있는 차이로 볼 수 있으므로[2] 시험관법을 신빙성 있는 검사방법으로 사용하기 위해서는 표준화가 시급함을 알 수 있다.

원주응집법은 시험관법에 비하여 기관 간의 역가 차이를 유의하게 감소시킬 수 있는 것으로 보고되었고[4], 또한 검사소요시간이 짧으면서 기존의 시험관법과 일치율이 높은 점[5] 등의 유용성이 보고되고 있으며 자동화가 가능하다는 장점이 있지만 검사비용이 고가라는 것이 현실적인 한계점이다.

ABO 동중응집소 역가를 측정하는데 있어서 결과값에 영향을 줄 수 있는 요인은 많이 있으나 이 중 본 연구에서는 검체와 직접 반응하는 적혈구 부유액의 제조 조건을 고려하였다. 일반적으로 수혈의학에서 많이 쓰이는 적혈구 부유액은 검사실에서 손쉽게 만들 수 있으나 안정성이 검증되지 않았을 때는 제조 당일에만 사용하도록 하고 있다[6]. 본 연구 결과에서 시험관 실온법에서 6일째부터 1배수 이내에서 유의하게 낮은 결과를 보였으나 이 정도는 역가검사의 허용범위일 수 있으므로 이를 참고하여 사용하는 것이 좋을 것으로 판단된다. 겔카드법은 일반적으로 '1+' 응집을 기준으로 판독하고 있고 이 경우 7일째까지 안정한 것으로 볼 수 있다고 판단하였다.

적혈구농도 및 용량에 대한 지침에는 검체와 적혈구 부유액의 비율을 1:1 (2%, 2 drops:2 drops)이나 2:1 (3 to 4%, 2 drops:1 drop) [7]로 반응시키거나 2:1 (3% 상품 적혈구, 100 μL:50 μL)로 시행한 경우[2], 농도를 명기하지 않고 1:2 (1 drop:2 drops)으로[2] 언급한 보고들이 있다. 2012년 국내기관에 실시한 설문조사 답변을 살펴

보면 시험관법을 이용하고 있는 50개 기관 가운데 37개 기관에서 적혈구농도를 대략 2-5%에 맞추어 사용하고 있었으며 10개 기관이 2%, 2개 기관이 3%, 1개 기관이 2.5%에 맞추어 사용하고 있다고 답변하였다. 검체와 적혈구 부유액 비율은 1:1로 시행하는 기관이 40개로 가장 많았고 9개 기관이 2:1, 1개 기관이 4:1로 답변하였다(unpublished data). 일반적으로 농도를 3%에 맞추어 판매되고 있는 상품혈구들을 ABO 항체 역가 측정에 사용하고 있는 국내 검사실도 있으므로, 검사실에서 자체 제조 적혈구 부유액을 사용하는 경우에는 검체 반량의 3% 적혈구 부유액을 사용하는 것이 국내에서 검사법을 표준화하는데 좋은 방법일 것으로 생각한다.

본 연구에서는 상품 적혈구 이외에 검사실에서 손쉽게 얻을 수 있어 자가제조가 가능한 CPDA-1 혈구와 EDTA 혈구로 적혈구 부유액을 제조하여 결과를 비교하였고 이 때 상품 적혈구 공정에 준하여 개인 간 변이 감소를 위해 3명의 검체를 혼합하였다. 수혈의 학검사의 전반에서 적혈구 부유액을 이용한 검사가 널리 쓰이고 있으나 이용 가능한 적혈구의 종류에 대한 언급은 없는데, 본 연구에서 확인한 것과 같이 위의 세 가지 적혈구를 사용하는 기관 사이에 적혈구 종류로 인한 결과 차이는 없다는 것을 알 수 있었다.

검사법의 표준화 부재로 인한 검사실 간의 결과 값 차이는 ABO 항체 역가와 환자 경과 및 예후와의 임상적 상관관계를 연구하고 설명하는데 있어서 큰 걸림돌이 될 것으로 여겨진다. 또한 ABO 항체 역가와 임상 각 과의 적절한 목표 역가 설정 및 치료 방침의 발전을 위해서는 ABO 동종응집소 역가 측정에 이용되는 각 검사법의 표준화뿐만 아니라 나아가 측정방법의 차이의 이해 또한 필요할 것으로 판단된다.

따라서, 검사실 간 차이를 최소화하기 위해서는 검사실에서 자체 제조 적혈구를 사용하는 경우 제조 후 5일 이내 사용하고 시험관법은 검체 반량의 3% 적혈구 부유액을 사용하는 것이 도움이 될 것이다.

요 약

배경: ABO 항체 역가 측정 결과는 검사법의 표준화 부재로 인하여 검사실 간의 차이가 크다. 이 연구의 목적은 ABO 항체 역가 측정의 표준화를 위한 적혈구 부유액 제조 조건을 제시하는 것이다.

방법: 건강한 성인의 혈청과 EDTA 혈액, CPDA-1 현혈 혈액 및 상

품화 적혈구를 사용하였다. 적혈구 부유액 조건으로 보관일, 혈청과 적혈구의 용량 비율, 적혈구 종류를 달리하여 각 혈액형에 따른 역가를 측정하였다. 시험관법과 겔카드법으로 실온배양법과 간접항글로불린검사를 시행하였다.

결과: 적혈구 부유액 보관일의 경우 제조 후 6-7일째에 역가에 유의한 차이를 보이는 것을 확인하였다. 검체 동량의 3% 적혈구 군이 검체 동량의 2% 적혈구 및 검체 반량의 3% 적혈구보다 유의하게 낮은 값을 보였다. 세가지 적혈구의 종류에 따른 항체 역가의 유의한 차이는 없었다.

결론: 검사실에서 자체 제조 적혈구를 사용하는 경우 제조 후 5일 이내 사용하고 시험관법은 검체 반량의 3% 적혈구 부유액을 사용하는 것이 검사실 간 차이를 최소화하기 좋은 방법으로 여겨졌다.

감사의 글

이 연구는 대한임상검사정도관리협회 연구용역과제(2012-2) 지원에 의한 것임.

REFERENCES

1. Roback JD, ed. Technical Manual. 17th ed. Bethesda: American Association of Blood Banks, 2011:909.
2. Kobayashi T, Saito K. A series of surveys on assay for anti-A/B antibody by Japanese ABO-incompatible Transplantation Committee. *Xenotransplantation* 2006;13:136-40.
3. Lee EY, Kim S, Kim HO, Kwon SW, Kim DW, Han KS. Survey analysis of ABO antibody titration at four university hospitals in Korea. *Korean J Blood Transfus* 2011;22:24-30.
4. Kumlien G, Wilpert J, Säfwenbergl J, Tydén G. Comparing the tube and gel techniques for ABO antibody titration, as performed in three European centers. *Transplantation* 2007;84(12S):S17-9.
5. Shirey RS, Cai W, Montgomery RA, Chhibber V, Ness PM, King KE. Streamlining ABO antibody titrations for monitoring ABO-incompatible kidney transplants. *Transfusion* 2010;50:631-4.
6. Roback JD, ed. Technical Manual. 17th ed. Bethesda: American Association of Blood Banks, 2011:873-907.