

7-1-1986

The serological diagnosis of rubella infection using staphylococcal protein A absorption method

V. Punnaragsa

R. Sakulramrung

Follow this and additional works at: <https://digital.car.chula.ac.th/clmjournal>



Part of the [Medicine and Health Sciences Commons](#)

Recommended Citation

Punnaragsa, V. and Sakulramrung, R. (1986) "The serological diagnosis of rubella infection using staphylococcal protein A absorption method," *Chulalongkorn Medical Journal*: Vol. 30: Iss. 7, Article 8.
DOI: 10.58837/CHULA.CMJ.30.7.8
Available at: <https://digital.car.chula.ac.th/clmjournal/vol30/iss7/8>

This Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in Chulalongkorn Medical Journal by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact ChulaDC@car.chula.ac.th.

นิพนธ์ต้นฉบับ

การตรวจวินิจฉัยโรคหัดเยอรมันโดยการดูดซับน้ำเหลืองด้วย Staphylococcal protein A*

วรรณา พรรณรักษา* *

ฤทัย สกุลแรมรุ่ง* *

Punnarugsa V, Sakulramrung R. The serological diagnosis of Rubella infection using Staphylococcal protein A absorption method. Chula Med J 1986 Jul; 30 (7) : 663-670

The ability of the protein A of Staphylococcus aureus, Cowan I, in the removal of immunoglobulin was studied. Rubella HI antibodies in the sera of 66 healthy pregnant women were all abolished after absorption with protein A. All convalescent sera of 100 patients who had rubella infection still had measurable HI antibodies, with titers between 1 : 20-1 : 160 in 89 percents.

On measuring the quantity of immunoglobulins in 40 convalescent sera that were pre and post absorbed by protein A it was found that protein A was able to absorb IgG from 93.6% of the sera, IgM and IgA from 20 and 21% of the sera respectively. Rubella specific IgM was found in all sera of patients, taken between 7-28 th day after onset of rash.

* ทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช สาขาแพทยศาสตร์ ปี 2527, เสนอในที่ประชุมวิชาการ คณะแพทยศาสตร์

โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ปี 2528

* * ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นับตั้งแต่ปี 1941 ที่ Gregg และพวกพบว่าโรคหัดเยอรมันมีความสัมพันธ์กับความพิการทางตาของทารกแรกคลอด จากนั้นมาได้มีการศึกษาถึงผลกระทบของโรคนี้มากขึ้น และในที่สุดก็พบว่าโรคหัดเยอรมันทำให้เกิดความผิดปกติต่อการตั้งครรภ์ เช่น แท้ง ตายคลอด ทารกมีความพิการสูง⁽¹⁾ บางรายงานให้อุบัติการณ์ของความผิดปกตินี้สูงถึง 25-30%

การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยโรคนี้ นิยมตรวจหาระดับ Hemagglutination inhibition antibody (HI.Ab.) ต่อ rubella virus ในน้ำเหลืองของผู้ป่วย โดยตรวจน้ำเหลือง 2 ตัวอย่าง ตัวอย่างแรกเจาะขณะผู้ป่วยเริ่มมีอาการของโรค คือ มีไข้ผื่นเป็น acute serum ตัวอย่างที่ 2 เจาะ 5-7 วัน ต่อมาเป็น convalescent serum เพราะว่าหลังจากมีอาการประมาณ 7 วันจะเป็นช่วงที่มีแอนติบอดีขึ้น สำหรับผู้ที่สัมผัสโรคจะตรวจครั้งแรกในระยะสัมผัสโรค แล้วตรวจครั้งที่ 2 ใน 3-4 สัปดาห์ต่อมา เพราะระยะฟักตัวของโรคนาน 2-3 สัปดาห์ การแปลผลนั้นถ้าน้ำเหลืองคู่ใดมีระดับแอนติบอดีสูงขึ้นเป็น 4 เท่าจะบ่งชี้ว่ามี acute infection

หรือในทารกแรกคลอดที่สงสัยเป็น congenital rubella จะตรวจพบแอนติบอดีเมื่อระยะแรกคลอด แล้วติดตามตรวจเด็กต่อไปอีก 3-6 เดือน เพื่อดูระดับแอนติบอดี ถ้าระดับแอนติบอดีลดลงไป แสดงว่าแอนติบอดีนี้เป็นแอนติบอดีที่เด็กได้รับจากมารดาขณะอยู่ในครรภ์ แต่ถ้าระดับแอนติบอดียังคงสูงอยู่หรือมีระดับสูงขึ้น⁽²⁾ แสดงว่าแอนติบอดีนั้นเป็นแอนติบอดีที่เกิดจากตัวเด็กเนื่องจากมี congenital infection ซึ่งทั้งนี้จะต้องใช้เวลาประมาณ 4-6 เดือนกว่าจะให้การวินิจฉัยได้

มีผู้ป่วยจำนวนไม่น้อยมาหาแพทย์หลังจากอาการต่างๆ ของโรคได้ผ่านพ้นไปแล้ว หรือไปสัมผัส

โรคมาแล้ว 1-2 เดือน ซึ่งจะไม่มีน้ำเหลืองในระยะ acute ของโรคมาให้ศึกษาเปรียบเทียบทำให้การวินิจฉัยโรคเกิดปัญหาอย่างมาก

เป็นที่ทราบกันว่า เมื่อเกิดการติดเชื้อ, Immunoglobulin ตัวแรกที่ถูกสร้างขึ้นคือ IgM ซึ่งจะพบในช่วงแรกหลังมีการติดเชื้อ จากนั้น IgG จะถูกสร้างขึ้นตามหลัง, IgM อยู่ไม่นานพบอยู่เพียงช่วงสั้น ๆ ของ acute phase ของโรค, ส่วน IgG จะอยู่นานเป็นปี เพราะฉะนั้นเมื่อพ้นระยะ acute phase ของโรคแอนติบอดีที่เหลืออยู่เป็น IgG เป็นส่วนใหญ่

ใน congenital rubella infection, specific IgM rubella antibody จะปรากฏใน fetus ตั้งแต่ระยะ ไตรมาสที่ 3 และพบในช่วงหลังคลอดไปอีกระยะหนึ่ง

ดังนั้น ถ้าสามารถแสดงให้เห็นว่า rubella antibody ในน้ำเหลืองของผู้ป่วยนั้นเป็น immunoglobulin ชนิด IgM แม้จะพบใน single serum ก็น่าจะบ่งชี้ได้ว่า ผู้ป่วยมีการติดเชื้อเร็ว ๆ นี้ หรือเป็น congenital infection

ได้มีผู้ใช้วิธีการหลายอย่างเพื่อตรวจ IgM specific antibody ในน้ำเหลืองของผู้ป่วย เช่นทำ Fractionate serum โดย sucrose gradient ultracentrifugation⁽³⁾ หรือย้อม specific IgM antibody โดยวิธี immunofluorescent technic⁽⁴⁾ หรือใช้สาร 2-mercaptoethanol^(5,6) เพื่อ inactivate IgM และวิธีอื่น ๆ อีก

ได้มีรายงานถึง โปรตีนเอ ซึ่งเป็นสารที่อยู่ที่ผนังเซลล์ของเชื้อ Staphylococcus aureus บางสายพันธุ์^(7,8,9) โปรตีนเอ นี้สามารถจับกับ Fc portion ของ human IgG โดยจับกับ IgG subclass 1,2 และ 4 ไม่จับกับ subclass 3 เนื่องจาก IgG subclass 1,2 และ 4 มีเป็น 95% ของ

IgG ทั้งหมด ดังนั้น ถ้าดูดซับ (absorb) น้ำเหลืองของผู้ป่วยด้วยโปรตีนเอนี้ แอนติบอดีส่วนที่เป็น IgG จะถูกดูดซับเกือบหมด ที่เหลือส่วนใหญ่เป็น IgM, IgA และ IgD วิธีนี้ได้มีผู้นำไปศึกษาแล้ว^(11,12,13,14,15)

ผู้รายงานจึงมีวัตถุประสงค์จะศึกษา IgM แอนติบอดีที่จำเพาะต่อไวรัสหัดเยอรมันในน้ำเหลืองของผู้ป่วยและคนปกติทั่วไป โดยดูดซับน้ำเหลืองของคนเหล่านี้ด้วยโปรตีนเอของ Staphylococcus aureus เพื่อดึงเอา IgG ออก ก่อนนำไปทำ HI test ตามวิธีปกติ

วัสดุและวิธีการ

การเตรียมโปรตีนเอ

ใช้ Staphylococcus aureus สายพันธุ์ Cowan I ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีโปรตีนเอเลี้ยงเชื้อนี้ให้เป็น pure culture ใน blood agar แล้ว subculture ใน trypticase soy broth นาน 1 คืน เสร็จแล้วนำไปปั่น, ล้างปั่นอีก 2 ครั้ง ทำให้เป็น 10% suspension แล้ว inactivate ด้วย Formalin 1.5% นาน 90 นาที, ปั่นล้างเอา Formalin ออก 2 ครั้ง แล้วทำให้เป็น 10% suspension, inactivate โดยความร้อน 80°C 5 นาที ระยะเวลาแล้วเอาออกมาทำให้เย็นโดยเร็ว โดยแช่ในน้ำแข็ง ปั่นล้าง 2 ครั้ง แล้วทำให้เป็น 10% suspension เก็บไว้ใช้ทดสอบต่อไปได้

น้ำเหลืองของผู้ป่วย ถ้าเป็น paired sera จะทำพร้อมกัน ต้องนำน้ำเหลืองมากำจัด non-specific inhibitor และ nonspecific agglutinator ซึ่งมีอยู่ในน้ำเหลืองตามธรรมชาติเสียก่อน การกำจัด nonspecific inhibitor ใช้ 25% Kaolin suspension, และใช้ 50% เม็ดเลือดแดงนกพิราบเป็นตัวกำจัด nonspecific agglutinator, น้ำเหลือง

ที่ treat แล้วจะมีความเจือจาง 1:5, น้ำเหลืองนี้ส่วนหนึ่งจะเอาไปทำ HI test เลย อีกส่วนหนึ่งจะเอาไปดูดซับกับโปรตีนเอเสียก่อน

การดูดซับน้ำเหลืองด้วยโปรตีนเอ

ใช้ Staphylococcus aureus suspension ที่เตรียมไว้นั้นปริมาตร 1 ml. มาปั่นให้เช็ดตกตะกอนโดยใช้ความเร็ว 2000-2500 rpm. นาน 30 นาที เทน้ำส่วนบนออกให้หมด ต้องระวังทำให้หมดจริง ๆ ตะกอนจะมีปริมาตร 0.1 ml.

เติม treated serum 0.1 ml. ลงไปผสมกับตะกอนเขย่าให้เข้ากัน และให้ดูดซับนาน 30 นาที ในอุณหภูมิห้อง ให้เขย่าเป็นระยะ ๆ

เมื่อครบเวลา ให้นำ mixture นี้ไปปั่นอีกครั้ง serum ที่ถูกดูดซับแล้วจะอยู่ส่วนบนนำไปทำ HI test โดยวิธี micromethod

ผลของการศึกษา

1. การศึกษาในกลุ่มควบคุมผู้ที่ไม่มีประวัติของการเป็นโรคหรือสัมผัสโรค ได้แก่ สตรีมีครรภ์ที่มาที่ ANC. clinic จำนวน 66 คน ในช่วงก่อนจะมีการระบาด ตรวจได้แอนติบอดีต่อหัดเยอรมันในระดับไตเตอร์ต่าง ๆ กัน และเมื่อดูดซับน้ำเหลืองด้วยโปรตีนเอของ Staphylococcus aureus แล้วก็พบว่า Rubella antibody ถูกดูดซับไปหมด ดังตารางที่ 1

2. ผลการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วย ผู้ป่วยที่เป็นโรคหัดเยอรมัน โดยมีอาการไข้ ออกผื่น และน้ำเหลืองคั่งมีแอนติบอดีเพิ่มขึ้น 4 เท่าหรือมากกว่า ได้นำน้ำเหลืองที่ 2 มาศึกษา เป็นจำนวน 100 ราย พบว่าน้ำเหลืองหลังดูดซับด้วยโปรตีนเอแล้วยังคงตรวจได้แอนติบอดีทุกคน โดยมีระดับแอนติบอดีต่ำกว่าเดิม เช่นก่อนดูดซับได้ไตเตอร์ 1:320 หลังดูดซับไตเตอร์จะเหลือ 1:40

Table 1 Rubella antibody titer of the 66 healthy pregnant women before and after protein A absorption

Number of tests	HI. antibody titer	
	unabsorbed serum	absorbed serum
17	negative or < 1 : 10	negative or < 1 : 10
5	1 : 10	
10	1 : 20	
7	1 : 40	
16	1 : 80	
11	1 : 160	

ระดับไตเตอร์ของแอนติบอดีในน้ำเหลือง สูงดังแสดงในตารางที่ 2
 หลังการดูดซับด้วยโปรตีนเอ มีระดับอยู่ในเกณฑ์

Table 2 Titer of specific IgM antibody in convalescent serum of 100 patients

Specific IgM antibody titer	Number of cases
1 : 10	11
1 : 20	32
1 : 40	35
1 : 80	20
1 : 160	2

3. การวัดปริมาณ Immunoglobulin ชนิดต่าง ๆ ในน้ำเหลืองก่อนและหลังการดูดซับกับโปรตีนเอ เพื่อดูความสามารถของโปรตีนเอ ในการดูดซับ immunoglobulin

นำน้ำเหลืองที่ได้กำจัดเอา nonspecific agglutinator และ nonspecific inhibitor แล้ว

นั้นแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งไปวัดปริมาณ Ig เลย อีกส่วนหนึ่งไปดูดซับกับโปรตีนเอ แล้วจึงวัด การวัดใช้วิธี radial immunodiffusion ทำการศึกษาในน้ำเหลือง 40 ตัวอย่าง ได้ผลดังตารางที่ 3

Table 3. Amount of Immunoglobulin (mg%) in 40 patient sera before and after Protein A absorption

Immunoglobulin	Unabsorbed sera		Absorbed sera		Amount absorbed (percents)
	Range	Mean	Range	Mean	
IgG	600-1725	1095.82	50-160	60.7	93.2
IgM	70-140	102.84	70-95	82.24	20.04
IgA	100-295	196.8	95-215	154.7	21.4

ปริมาณ IgG ในน้ำเหลืองก่อนการดูดซับกับโปรตีนเอ มีค่าเฉลี่ย 1094 mg% หลังการดูดซับ IgG เหลือเพียง 60.7 mg% คำนวณแล้วพบว่า IgG ถูกดูดซับออกไป 93.2% ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของต่างประเทศ ส่วน IgM และ IgA นั้นหลังการดูดซับก็มีปริมาณลดลง 20 และ 21% ตามลำดับ แสดงว่าโปรตีนเอ สามารถดูดซับ IgG จริงหลังการดูดซับจะเหลือ IgG เพียง 6%

4. การศึกษาระยะเวลาที่ IgM ปรากฏอยู่ในน้ำเหลือง ตามที่ได้กล่าวไว้ว่า specific IgM จะเกิดหลังจากมีอาการของโรคและอยู่ไม่นานจึงได้ศึกษา IgM นี้จะอยู่นานเพียงใด

ได้ศึกษาในผู้ป่วย 20 คน นัดหมายให้ผู้ป่วยมาตรวจเลือดหา IgM ทุกสัปดาห์เป็นเวลา 3 เดือน ให้แยกน้ำเหลืองเก็บไว้ที่ -20°C รอจนตัวอย่างครบแล้วจึงนำออกมาตรวจพร้อมกันในผู้ป่วยแต่ละราย

ผลพบว่า ในสัปดาห์แรกของโรคคือ 1-7 วันหลังจากเริ่มมีอาการ (คือ first serum) ตรวจได้ IgM ร้อยละ 39 สัปดาห์ที่ 2 ของโรคคือวันที่ 8-14 ตรวจได้ในผู้ป่วยทุกคน คิดเป็นร้อยละ 100 เช่นเดียวกับในสัปดาห์ที่ 3, และ 4 ของโรคพบ IgM ในผู้ป่วยทุกคน หลังจากนั้นผู้ป่วยบางคนเริ่มตรวจไม่ได้ IgM ในสัปดาห์ที่ 5 ของโรค ตรวจได้ 85% และจากนั้นเปอร์เซ็นต์ที่ตรวจได้ ก็ลดลงตามลำดับตามแผนภูมิที่ 1

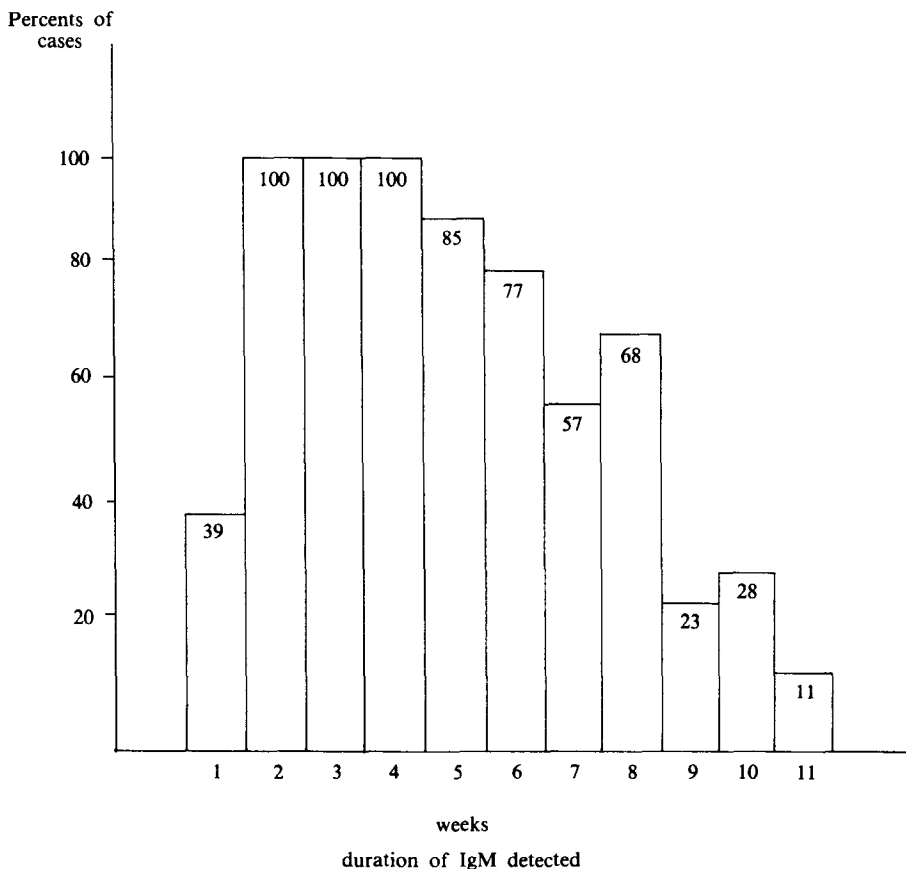


Figure 1. Duration of specific IgM present in the serum.

มีผู้ป่วย 1 รายที่ตรวจได้ IgM นานที่สุดคือ 74 วัน

เมื่อคำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) ของระยะเวลาที่ตรวจได้ IgM ในผู้ป่วยกลุ่มนี้ ได้ค่าเฉลี่ยนาน 46 วัน

วิจารณ์

จากผลการศึกษา พบว่าแอนติบอดีต่อหัดเยอรมันที่ตรวจได้ในสตรีมีครรภ์ที่ไม่มีประวัติของการเป็นโรค ซึ่งได้ระดับไตเตอร์ต่าง ๆ นั้น เมื่อนำน้ำเหลืองมาดูดซับกับโปรตีนเอของ *Staphylococcus aureus* หลังดูดซับจะตรวจไม่ได้แอนติบอดีทุกรายใน 66 รายที่ทำการทดสอบ จากรายงานของ Kronvall⁽¹⁰⁾ ที่กล่าวว่าโปรตีนเอของ *Staphylococcus aureus* จะดูดซับ immunoglobulin ส่วนที่เป็น IgG ร้อยละ 95 จากน้ำเหลือง ดังนั้นแอนติบอดีของหญิงมีครรภ์เหล่านี้จึงน่าจะเป็น IgG เป็นแอนติบอดีที่เกิดขึ้นจากการติดเชื้อในอดีตซึ่งตรงกับความเป็นจริง คือสตรีที่นำมาศึกษานี้ไม่มีประวัติการป่วยด้วยโรคไขผื่นในขณะทำการตรวจและไม่มีประวัติการสัมผัสโรคในระยะนั้น

เมื่อศึกษาน้ำเหลืองที่ 2 ของผู้ป่วยที่มีอาการของโรคชัดเจน และแอนติบอดีในน้ำเหลืองคู่มีระดับ HI antibody สูงกว่ากันมากกว่า 4 เท่า นั้นพบว่าหลังการดูดซับด้วยโปรตีนเอ ยังคงวัดได้ HI antibody แต่มีระดับไตเตอร์ลดลงจากที่วัดก่อนการดูดซับ คงเป็นเพราะแอนติบอดีส่วนที่เป็น IgG ถูกดูดซับออกไป จึงทำให้ระดับแอนติบอดีลดลง แอนติบอดีที่เหลืออยู่นั้น เป็น IgM ที่จำเพาะต่อหัดเยอรมัน แสดงว่าเป็นน้ำเหลืองของผู้ป่วยที่เพิ่งมีการติดเชื้อหัดเยอรมัน ซึ่งตรงกับความเป็นจริง เพราะน้ำเหลืองเหล่านี้ได้จากผู้ที่ เป็นโรคหัดเยอรมันทั้งนั้น

จากผลการวัดปริมาณ IgG และ IgM ในน้ำเหลืองของผู้ป่วยเหล่านี้ วัดก่อนและหลังการดูดซับด้วยโปรตีนเอ พบว่าปริมาณ IgG ในน้ำเหลืองหลังการดูดซับน้อยกว่าในน้ำเหลืองก่อนการดูดซับถึงร้อยละ 93.2 นั่นคือโปรตีนเอดูดซับ immunoglobulin ส่วนที่เป็น IgG ออกไปถึง 93.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งค่านี้ใกล้เคียงกับที่มีผู้รายงานไว้ หลังการดูดซับ IgM ก็ลดลงไป 20 เปอร์เซ็นต์, IgA ลดไป 21% Mallinson⁽¹¹⁾ ได้รายงานไว้ว่า โดยวิธีเดียวกันนี้ IgM และ IgA ลดลง 29% และ 19% ตามลำดับ

การติดตามดูว่า specific IgM rubella antibody จะปรากฏในน้ำเหลืองได้นานเท่าใด พบว่าการติดตามผู้ป่วยใน 4 สัปดาห์ หลังออกผื่น พบ IgM ในผู้ป่วยทุกคน ในสัปดาห์ที่ 5 จะมีผู้ป่วยบางคนตรวจไม่พบ IgM คงตรวจได้เพียงร้อยละ 85 แสดงว่า IgM ของทุกคนจะอยู่ได้นาน 28 วัน ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของผู้อื่น Meurman ตรวจได้ IgM นาน 4-37 วัน โดยวิธี RIA⁽¹¹⁾ Caul⁽⁵⁾ ตรวจได้นาน 5-40 วันโดยวิธี HI test หลัง treat น้ำเหลืองด้วย mercaptoethanol การศึกษานี้พบ Range ของการตรวจพบ IgM นาน 28 ถึง 74 วันเฉลี่ยแล้วพบนานประมาณ 46 วัน ดังนั้นถ้าผู้ป่วยมีประวัติการออกผื่นแล้วมาตรวจหา specific IgM rubella antibody ภายใน 28 วัน ถ้าตรวจไม่พบแสดงว่าไม่เป็นโรค แต่ถ้ามาตรวจหลัง 28 วัน การตรวจไม่พบไม่ยืนยันการไม่เป็นโรค

การศึกษาในกลุ่มสตรีที่ไม่มีประวัติการเป็นโรค ซึ่งพบว่า โปรตีนเอมีความสามารถดูดซับ IgG antibody ลงจนไม่สามารถวัดได้ ซึ่งจะเห็นได้ว่าไม่ว่า Rubella IgG antibody จะมีระดับไตเตอร์เท่าใด ก็ถูกดูดซับจนถึงระดับที่วัดไม่ได้ ทั้งที่คุณสมบัติของโปรตีนเอ จะไม่ดูดซับ IgG subclass 3

ซึ่งคงเป็นเพราะว่า IgG subclass 3 ไม่เกี่ยวข้อง
กับ rubella HI test⁽¹⁶⁾

การตรวจวิธีนี้ค่อนข้างง่าย การเตรียมโปรตีน
เอ ทำได้ไม่ยาก ข้อสำคัญคือต้องใช้ปริมาณของ
โปรตีนเอให้เพียงพอ หลังจากปั่นให้โปรตีนเอตก
ตะกอน ก่อนจะนำมาดูดซับน้ำเหลือง ต้องเอาส่วน
ที่เป็นน้ำออกจากโปรตีนเอให้หมด ได้ทดลองดูด
ซับน้ำเหลืองด้วยโปรตีนเอ 2 ครั้ง พบว่าได้ผลเท่า
กัน จึงคิดว่าถ้าใช้ปริมาณโปรตีนเอเพียงพอแล้ว
ไม่จำเป็นต้องดูดซับซ้ำ ผลการศึกษาพบว่าวิธีนี้เป็น

การตรวจที่มี sensitivity และ specificity สูงมาก
เพราะไม่พบมี false negative หรือ false posi-
tive ในน้ำเหลืองกลุ่มควบคุม และกลุ่มผู้ป่วย

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณทุนรัชดาภิเษกสมโภช คณะ
แพทยศาสตร์ ที่ได้ให้ทุนวิจัย และขอขอบคุณนาง-
วนิดา มั่งมี นักวิทยาศาสตร์ สำหรับการปฏิบัติการ
ทางห้องทดลอง

อ้างอิง

1. Rubella. Am J Dis Child 1969 Jul; 118(1) : 1-410
2. Rawls We, Desmyter J, Melnick JL. Serologic diagnosis and fetal involvement in maternal rubella criteria for abortion. JAMA 1968 Feb 26; 203:627-631
3. Caul EO, Eobbs SJ, Roberts PC, Clarke SK. Evaluation of a simplified sucrose gradient method for the detection of rubella-specific IgM in routine diagnostis practice. J Med Virol 1978; 2(2) : 153-163
4. Hornsleth A, Leerhoy J, Grauballe P, Spanggaard H. Rubella-specific IgM and IgA antibodies. The indirect immunofluorescence (IF)-technique applied to sera with reduced IgG concentration. Acta Pathol Microbiol Scand (B) 1974; 82 : 742-747
5. Caul E O'Smyth GW, Clarke KR. A simplified method for the detection of rubella-specific IgM employing sucrose density fractionation and 2-mercaptoethanol. J Hyg (Comb.) 1974 Dec; 73(3) : 329-340
6. Banatvala JE, Best JM, Kennedy EA, Smith EE. A serological method for demonstrating recent infection by rubella virus. Br Med J 1967 Jul 29; 3(5560) : 285-286
7. Forsgren A Nordstrom K. Protein A from staphylococcus aureus : the biological significance of its reaction with IgG. Ann NY Acad Sci 1974 Jul 31; 236 : 252-266
8. Field PR, Shanker S, Murphy AM. The use of protein A-sepharose affinity chromatography for seperation and detection of specific IgM antibody in acquired rubella infection : a comparison with absorption by staphylococci containing protein A and density gradient ultracentrifugation. J Immunol Methods 1980; 32(1) : 59-70
9. Forsgren A, Sjoquist J. "Protein A" from S.aureus. I. Pseudo-immune reaction with human Y-globulin. J Immunol 1966 Dec; 97(6) : 822-827
10. Kronvall G, Williams RC, Jr. Differences in anti-protein A activity among IgG subgroups. J Immunol 1986 Dec; 103(6) : 828-833
11. Richman DD. The use of staphylococcal protein A in diagnostic virology.

- Curr Top Microbiol Immunol 1983; 104 : 159-176
12. Chonmaitree T, Powell KR, Menegus MA. Staphylococcal protein A in the serologic diagnosis of congenital rubella and toxoplasmosis. *Pediatr Infect Dis* 1982 Jul-Aug; 1(4) : 228-231
13. Mallinson H, Roberts C, Bruce White GB. Staphylococcal protein A; its preparation and an application to rubella serology. *J Clin Pathol* 1976 Nov; 29(11) : 999-1002
14. Ankerst J, Christensen P, Kjellen L, Kronvall G. A routine diagnostic test for IgA and IgM antibodies to rubella virus : absorption of IgG with *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis* 1974 Sep; 130(3) : 268-273
15. Vesikari T, Vaheri A. Rubella : a method for rapid diagnosis of a recent infection by demonstration of IgM antibody. *Br Med J* 1968 Jan 27; 1(3288) : 221-223
16. Linde GA. Subclass distribution of rubella virus-specific immunoglobulin G. *J Clin Microbiol* 1985 Jan; 21(1) : 117-121

จุฬาลงกรณ์เวชสารได้รับต้นฉบับเมื่อวันที่ 20 เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2528