

นิพนธ์ต้นฉบับ

การตรวจแอนติบอดีหัดเยอรมันชนิด IgM
โดยวิธี Solid-phase immunosorbent hemagglutination
inhibition technic.

วรรณภา พรณรรักษ์*
วนิดา มั่งมี*

Punnarugsa V, Mungmee W. Detection of rubella specific IgM by solid-phase immunosorbent hemagglutination inhibition technic. Chula Med J 1986 Dec; 30 (12) : 1227 - 1235

Using Anti-human IgM bound to polystyrene surface to capture the rubella specific IgM, the presence of rubella specific IgM was indicated by its ability to inhibit the hemagglutination activity of sheep red blood cells.

The test was very sensitive and specific as it gave no false negative when studied in 19 patients whose blood was taken 7-22 days after the rash appeared or in sera that were known to be positive for rubella specific IgM by protein A absorption test but kept at -20° C for 2 years. The test also gave no false negative result in convalescent blood blotted on filter paper. In addition, it proved to be free from interference by rheumatoid factor and rubella specific IgG.

* ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การตรวจได้แอนติบอดีชนิด specific immunoglobulin M จะบ่งชี้การติดเชื้อในระยะเฉียบพลัน (acute infection) และการติดเชื้อเร็ว ๆ นี้ (recent infection) โดยที่ specific IgM นี้จะปรากฏในกระแสเลือดช่วงระยะเวลาหนึ่งหลังจากมีการติดเชื้อ^(1,2) specific IgM จะเป็นตัวแยก recent กับ past infection

การตรวจ specific IgM นั้นทำได้หลายวิธี วิธีที่ถือว่ามีความจำเพาะที่สุดคือการแยกส่วน immunoglobulin M ออกมาโดยใช้ sucrose gradient centrifugation⁽³⁾ แล้วนำส่วนที่มี IgM ไปตรวจหาแอนติบอดีด้วยวิธี Hemagglutination Inhibition test ต่อไปหรืออาจใช้วิธี indirect immunofluorescent test⁽⁴⁾ หรือดึงเอา IgG ออกจากน้ำเหลือง โดยใช้ protein A ของ staphylococcus aureus^(2,5,6,7,8) ทำลาย IgM ในน้ำเหลืองด้วยการใช้ 2 Mercaptoethanol⁽³⁾ ซึ่งวิธีเหล่านี้มีขั้นตอนมากทำให้เสียเวลา หรือต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพง การ absorbed น้ำเหลืองด้วย protein A เป็นวิธีที่ง่ายและได้ผลดี แต่ใช้เวลาในการเตรียมโปรตีนเอ วิธีเหล่านี้ส่วนมากจะสามารถตรวจได้น้อยตัวอย่าง

ต่อมาได้มีผู้นำวิธี immunosorbent technic เช่นวิธี ELISA มาใช้ในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัส^(9,10,11,12) พบว่าได้ผลดี สำหรับการตรวจหาหัตเยอร์มันไม่จำเป็นต้องใช้ระบบ enzyme มาใช้ แต่อาศัยคุณสมบัติที่ไวรัสสามารถ agglutinate เม็ดเลือดแดง ทำให้การตรวจง่ายขึ้น

วิธี immunosorbent technic นี้ใช้ coat หลุมของ Microtiter plate ด้วย anti human IgM เป็นวิธีการล่าสุดที่นำมาใช้ตรวจหา specific IgM พบว่าทำได้ง่าย ไม่ต้องใช้เครื่องมือยุ่งยาก และสามารถทำได้ทีละมากตัวอย่าง ในการตรวจ specific IgM ด้วยวิธี immunosorbent test อาจจะตรวจหา Rubella antibody ด้วยวิธี He-

magglutination inhibition test⁽¹³⁾ หรือ Hemadsorption test⁽¹⁴⁾ ซึ่งวิธีหลังนี้มีข้อยุ่งยากกว่า ต้องปั่น plate ด้วยเครื่องปั่นเพื่อแยก pattern ของ hemagglutination และ Hemadsorption ออกจากกัน ส่วนวิธีแรกสามารถวัดผลด้วยตาเปล่า จึงดูคล้ายว่าวิธี Solid phase immunosorbent hemagglutination inhibition (SPHIT) จะสะดวกและง่ายกว่า

ผู้วิจัยได้ใช้วิธี SPIHIT ตรวจหา specific IgM rubella antibody โดยเคลือบหลุมของ microtiter plate ด้วย anti human IgM แล้วใส่น้ำเหลืองของผู้ป่วย ตามด้วย rubella antigen จำนวน 1 HA unit และใส่เม็ดเลือดแดงแกะฉ่า น้ำเหลืองของผู้ป่วยมี specific IgM แอนติบอดีตัวนี้จะถูกจับโดย anti human IgM ที่เคลือบไว้ และเมื่อใส่ rubella antigen 1 HA unit แอนติเจนทั้งหมดจะเข้ากับปฏิกิริยากับ Specific IgM rubella antibody เมื่อใส่เม็ดเลือดแดงตามลงไป เม็ดเลือดแดงจึงไม่ให้เกิดปฏิกิริยา hemagglutination เม็ดเลือดแดงจะตกลงที่ก้นหลุมเป็นเม็ดกระดุม ซึ่งอ่านเป็นผลบวก ส่วนน้ำเหลืองที่ไม่มี specific IgM, rubella antigen จะคงเหลืออยู่และทำปฏิกิริยากับเม็ดเลือดแดงให้เห็นเป็น hemagglutination ซึ่งอ่านเป็นผลลบ ทั้ง 2 pattern นี้คือ hemagglutination inhibition และ hemagglutination จะแยกออกจากกันได้ชัดเจนด้วยตาเปล่า

วัสดุและวิธีการ

น้ำเหลืองที่ใช้ตรวจแยกออกเป็นน้ำเหลืองกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบ

1. น้ำเหลืองกลุ่มควบคุม แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มย่อยคือ

1.1 น้ำเหลืองกลุ่มควบคุมลบ เป็นน้ำเหลืองที่ได้จากสตรีมีครรภ์ มาฝากครรภ์ที่ ANC มีสุขภาพดี ไม่มีประวัติของการเจ็บป่วยในระยะ 1

เดือนที่ผ่านมา และเก็บในช่วงที่ไม่มีการระบาดของ
หัดเยอรมัน จำนวน 20 ราย เป็นน้ำเหลืองที่มี
ระดับ HI antibody ≥ 160

1.2 น้ำเหลืองกลุ่มควบคุมบวก เป็น
น้ำเหลืองที่เคยตรวจได้ specific IgM โดยวิธี
protein A absorption ซึ่งเก็บไว้ที่ -20°C นาน
2 ปี จำนวน 12 ราย

1.3 น้ำเหลืองกลุ่มควบคุม false positive
เป็นน้ำเหลืองที่มี Rheumatoid factor ในระดับ
ไตเตอร์ต่างกัน จำนวน 8 ตัวอย่าง นำมาทดสอบ
เพื่อดูอุบัติการณ์ของ False positive อันอาจให้ผล
เนื่องจาก rheumatoid factor

2. น้ำเหลืองกลุ่มทดสอบ เป็นน้ำเหลือง
ที่ได้จากผู้ป่วยที่มีอาการไข้ ออกผื่น และการตรวจหา
HI antibody ต่อหัดเยอรมัน พบว่ามีการขึ้นของ
ระดับแอนติบอดีจากเดิมมากกว่า 4 เท่า เป็นน้ำ-
เหลืองที่มี HI titer $\geq 1:80$ มีจำนวนน้ำเหลือง
19 ราย ที่เจาะจากหลอดเลือด และ 4 รายที่เก็บ
เลือดบนกระดาษซับเลือด

วิธีการ

การเตรียมน้ำเหลือง น้ำเหลืองทุกกลุ่มจะถูกนำ
มากำจัด nonspecific inhibitor โดยใช้ 25%
kaolin suspension และกำจัด nonspecific
agglutinator โดยใช้ 50% sheep RBC su-
sension จะได้น้ำเหลืองเจือจาง 1 : 5

วิธีทำการทดลอง

เคลือบหลุมของ plate ด้วย Rabbit antihu-
man IgM (Dakopat Glostrup, Denmark)
ที่เจือจาง 1 : 200 ใช้ปริมาณ 100 ul ในอุณหภูมิ
 4°C ค้างคืน

รุ่งขึ้น ล้าง plate ด้วย PBS (PH 7.5)
tween 0.1% 3 ครั้ง เจือจางน้ำเหลืองที่จะทดสอบ
ด้วย Hepes saline albumin pH 6.2 เริ่มที่
ความเจือจาง 1:10 ถึง 1:1280 หยอดน้ำเหลืองที่
เจือจางแต่ละ dilution ปริมาณ 100 ul ลงไป
ในหลุม ทิ้งไว้ให้ทำปฏิกิริยาที่ 37°C นาน 2-3 ชั่วโมง
ครบเวลาให้ล้างด้วย PBS Tween 3 ครั้ง

หยอด Rubella antigen (Behring, German)
1 HA unit ในปริมาณ 25 ul ลงไป ให้ทำปฏิกิริยา
ที่ 4°C ค้างคืน

รุ่งขึ้นหยอดเม็ดเลือดแดงแกะ 0.2% ปริมาณ
100 ul ลงไปโดยไม่ต้องเอาแอนติเจนออกผสมให้
เข้ากันดี ให้ทำปฏิกิริยากันที่ 4°C นาน 3 ชั่วโมง
แล้วนำมาอ่านผล

น้ำเหลืองที่ให้ปฏิกิริยา hemagglutination
inhibition test หรือยับยั้งการเกาะกลุ่ม ระหว่าง
เม็ดเลือดแดงและ rubella antigen โดยเม็ดเลือด
แดงจะตกลงมาเป็นเม็ดกระดุมสีแดงให้อ่านเป็น
ผลบวก

ส่วนน้ำเหลืองที่ไม่ยับยั้งการเกาะกลุ่มระหว่าง
เม็ดเลือดแดงและ rubella antigen โดยเม็ดเลือด
แดงจะเกาะกันเป็นแผ่นแผ่อยู่เต็มก้นหลุม ให้อ่าน
เป็นผลลบ ดังรูป

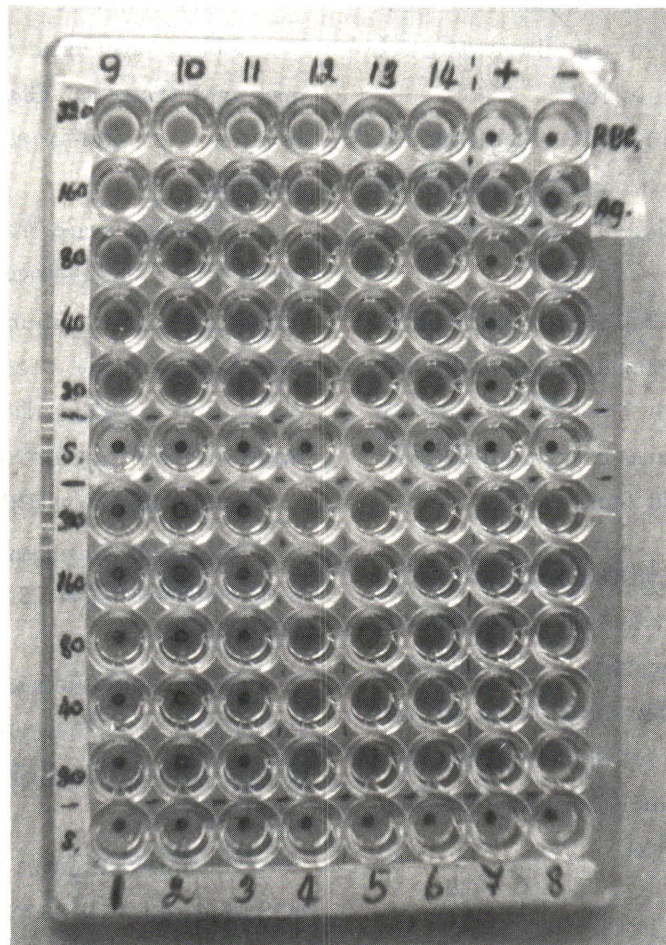


Figure 1 Solid phase Immunosorbent Hemagglutination Inhibition Test No. 1-3, positive sera No. 4-14, negative sera, control positive serum and control negative serum were on the upper right under RBC, Ag.

S = Serum control, RBC = red blood cell control

Ag = Antigen control, one and half HA unit.

ผลของการศึกษา

น้ำเหลืองกลุ่มควบคุม ซึ่งเป็นน้ำเหลืองของหญิงมีครรภ์ที่มีสุขภาพปกติและมีแอนติบอดีต่อหัดเยอรมันในระดับสูงมีจำนวน 20 ราย การทดสอบตรวจหา specific IgM โดยวิธี SPIHIT ให้ผลลบทุกราย เม็ดเลือดแดงจะเกาะกันเป็นร่างแหชัดเจนในความเจือจางแรกถึงสุดท้าย ซึ่งแสดงว่าแอนติบอดี

ต่อหัดเยอรมันของผู้ป่วยไม่ใช่ specific IgM

น้ำเหลืองกลุ่มทดสอบ ซึ่งเป็นน้ำเหลืองของผู้ที่มีอาการของโรค และมีแอนติบอดีเพิ่มขึ้น 4 เท่าหรือมากกว่ามีระดับ HI antibodies $\geq 1:80$ จำนวน 19 ราย การทดสอบหา specific IgM โดยวิธีนี้ให้ผลบวกทุกรายตามตารางที่ 1 และตารางที่ 2

Table 1 Result of SPIHIT test on convalescent sera with 4 fold rising antibodies and on high immune sera

SPIHIT test	No. of convalescent sera	No. of high immune sera
Positive	19	0
Negative	0	20

Table 2 Result of SPIHIT test on 19 patients' convalescent sera

No.	patients	Days after rash	HI titer	SPIHIT titer
1	V.A.	7	1:320	≥ 1:1280
2	C.S.	13	1:320	≥ 1:1280
3	A.N.	22	1:320	≥ 1:1280
4	V.L.	7	1:160	≥ 1:1280
5	L.P.	7	1:320	≥ 1:1280
6	S.Y.	9	1:320	≥ 1:320
7	S.R.	12	1:320	≥ 1:1280
8	V.K.	13	1:160	≥ 1:320
9	S.I.	9	1:160	≥ 1:320
10	V.S.	8	1:80	≥ 1:320
11	S.P.	7	1:320	≥ 1:320
12	V.S.	7	1:320	≥ 1:320
13	P.	9	1:160	≥ 1:320
14	S.P.	9	1:320	≥ 1:320
15	S.S.	7	1:160	≥ 1:520
16	S.S.	7	1:160	≥ 1:320
17	A.D.	18	1:320	≥ 1:320
18	S.K.	7	1:320	≥ 1:320
19	P.W.	15	1:160	≥ 1:320

เมื่อนำน้ำเหลืองของผู้ป่วยที่เคยตรวจได้ Specific IgM และเก็บไว้ที่ -20°C นาน 2 ปี มา

ตรวจ specific IgM โดยวิธี SPIHIT ได้ผลบวกทุกราย ตามตารางที่ 3

Table 3 Comparison of protein A absorption and SPIHIT tests for Specific IgM Rubella antibodies

No.	Patient	HI titer	IgM protein A Absorbtion titer	IgM SPIHIT titer
1	S.T.	1:160	1:20	≥ 1:320
2	A.S.	1:80	1:15	≥ 1:320
3	A.T.	1:640	1:30	1:320
4	M.T.	1:320	1:40	≥ 1:320
5	A.D.	1:160	1:15	≥ 1:320
6	B.Y.	1:80	1:20	≥ 1:320
7	C.P.	1:160	1:60	≥ 1:320
8	S.S.	1:320	1:20	≥ 1:320
9	S.T.	1:640	1:20	1:160
10	C.S.	1:160	1:10	1:160
11	P.P.	1:640	1:20	≥ 1:320
12	V.K.	1:640	1:20	≥ 1:320

น้ำเหลืองที่ให้ Rheumatoid factor บวก ในระดับไตเตอร์ต่าง ๆ ได้นำมาตรวจ specific IgM เพื่อดูผลบวกปลอม พบว่าไม่ได้ผลบวก แสดง

ว่า Rheumatoid factor ไม่มีความสัมพันธ์กับ วิธีการตรวจ SPIHIT ตามตารางที่ 4

Table 4 Result of SPIHIT test on rheumatoid factor positive sera

Serum	Rheumatoid factor titer	Rubella HI titer	SPIHIT
1	1:80	1:640	-ve (< 1:20)
2	1:1280	1:160	-ve (< 1:20)
3	1:80	1:40	-ve (< 1:20)
4	1:80	1:160	-ve (< 1:20)
5	1:40	1:20	-ve (< 1:20)
6	1:40	1:10	-ve (< 1:20)
7	1:40	1:80	-ve (< 1:20)
8	1:40	1:10	-ve (< 1:20)

ผู้ป่วยในกลุ่มศึกษาจำนวน 4 ราย ได้มีโอกาส เก็บเลือดบนกระดาษซับที่สามารถซับเลือดในปริมาณ 0.1 มล. (บริษัท Toyo Roshi ญี่ปุ่น) ศึกษา จำนวน 8 ตัวอย่าง โดยนำกระดาษซับเลือดมาละลาย

เอา immunoglobulin ออก⁽¹⁵⁾ แล้วทดสอบหา specific IgM โดยวิธี SPIHIT พบว่าได้ผลบวก ทุกตัวอย่าง โดยเก็บตัวอย่างเลือดบนกระดาษซับ ในอุณหภูมิห้องนาน 7-30 วัน ตามตารางที่ 5

Table 5 Result of SPIHIT from blotted blood at different length of time.

Patient	Days after rash	days after blood collected	SPIHIT	Result
			Clotted blood	Blotted blood
S S	7	14	≥ 1:320	≥ 1:320
		30	≥ 1:320	≥ 1:320
S S	7	7	≥ 1:320	≥ 1:320
		14	1:320	1:160
		21	1:320	1:160
S K	7	7	≥ 1:320	1:320
		14	1:320	1:320
P W	15	7	≥ 1:320	Not done
	29	7	1:160	1:80

วิจารณ์

ผลของการศึกษา พบว่าวิธี SPIHIT สามารถตรวจ specific IgM ได้ชัดเจน ไม่เกิดผลบวกปลอมหรือผลลบปลอม และทั้งยังพบว่า rheumatoid factor ไม่มีผลต่อ anti human IgM วิธีตรวจหา specific IgM วิธีนี้ดีกว่าวิธีอื่น ๆ ที่ใช้กัน เช่นการใช้ 2ME เป็นตัวทำลาย IgM ซึ่งบางส่วนของ IgG จะถูกทำลายด้วย หรือวิธีดูดซับ IgG โดยใช้โปรตีนเอ แม้จะได้ผลดีแต่การเตรียมโปรตีนเอเป็นเรื่องยุ่งยากและผลิตคราวละไม่มาก ทำให้ทดสอบได้คราวละน้อยตัวอย่าง การใช้วิธี sucrose gradient centrifugation แยกเอา immunoglobulin ออกมาเป็นส่วนนั้น เป็นวิธีที่เชื่อถือได้มากที่สุดแต่ก็ต้องใช้เครื่องมือมากมายหลายชิ้น และทำได้คราวละน้อยตัวอย่าง

วิธี SPIHIT นี้พบว่ามีควมไวและความจำเพาะสูงมาก น้ำเหลืองที่มีสภาวะต่างไปเช่น เก็บใน -20°C นาน 2 ปี หรือน้ำเหลืองจากกระดาษซับเลือดที่เก็บไว้ 1-4 สัปดาห์ วิธีนี้ยังคงตรวจ specific IgM ที่มีอยู่ได้ตามเดิม ซึ่งแสดงว่ามีความไวและมีความเที่ยงตรงมาก

การทดสอบของเราในระยะแรก ได้เจือจางน้ำเหลืองใน dilution เริ่มจาก 1:5 ถึง 1:1280 น้ำเหลืองที่มี specific IgM จะให้ผลบวกตั้งแต่ dilution แรกถึง dilution สุดท้าย เช่นเดียวกับน้ำเหลืองที่เป็น high immune serum ซึ่งไม่มี specific IgM ก็ให้ผลลบทุก dilution เพื่อความประหยัด ผู้วิจัยจึงได้ปรับการทดสอบ ให้ทดสอบน้ำเหลืองเจือจางจาก 1:20 ถึง 1:320 ซึ่งสามารถ

ลดจำนวนแอนติเจนและการใช้ microtiterplate ไป 1 เท่า ผลก็ยังคงเหมือนเดิม คือน้ำเหลืองบวกรก็จะให้ Hemagglutination inhibition หรือ เม็ดกระดุมทุก dilution และน้ำเหลืองลบก็ให้ red blood cell agglutination ทุก dilution

Krech และพวก⁽¹³⁾ ได้รายงานไว้ว่า titer ที่ถือว่าบวกรจะให้เริ่มพิจารณาที่ dilution \geq 1:40 นั่นคือ ถ้าเกิด hemagglutination inhibition ที่ 1:40 หรือสูงกว่าถือว่าบวกร และการทดสอบของเราพบว่าน้ำเหลืองกลุ่มบวกรนั้นให้ hemagglutination inhibition ถึง dilution ที่สูงมาก (\geq 1:1280) และน้ำเหลืองกลุ่มลบนั่นก็ให้ผลลบทั้งหมด ตั้งแต่ความเจือจางต่ำสุดถึงสูงสุด (1:5 \geq 1:1280) จึงตัดสินผลบวกรที่ไตเตอร์ \geq 1:40 เช่นกัน และได้ตัดทอน dilution ที่ไม่จำเป็นออกไปบ้าง เพื่อลดค่าใช้จ่าย โดยทดสอบที่ความเจือจาง 1:20 ถึง 1:320 เท่านั้น

ผลของการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างต่าง ๆ ยืนยันความไวและความเที่ยงตรงของวิธีทดสอบนี้ ข้อดีที่เห็นได้ชัดคือเป็นวิธีที่ง่าย ไม่ต้องการเครื่องมือพิเศษ สถาบันที่สามารถตรวจ Rubella HI antibodies ได้แล้วก็สามารถตรวจ specific IgM โดยวิธีนี้ โดยเพิ่มน้ำยาขึ้นมาอีกเพียงอย่างเดียว คือ anti human IgM วิธีนี้ได้ผลเร็วมาก ในกรณีที่เกิดเลือด plate ไว้แล้ว จะสามารถรู้ผลในวันรุ่งขึ้น และสามารถทำได้ทีละมากตัวอย่าง

จะเห็นว่า วิธี SPIHIT นี้มีความจำเพาะแต่กับ specific IgM เพราะเมื่อทดสอบกับน้ำเหลืองที่มี rubella IgG ในไตเตอร์สูง ๆ หรือทดสอบกับน้ำเหลืองที่มี rheumatoid factor ก็ไม่ให้ผลลบปลอมเลย เพราะ anti human IgM ที่

ใช้เตรียมจาก monoclonal IgM จึงสามารถกำจัดโอกาสที่จะเกิดปฏิกิริยาข้าม

ในการทดสอบ specific IgM จากเลือดบนกระดาษซับ ซึ่ง elute immunoglobulin ออกด้วยน้ำยา Kaolin ให้ผลลบกวชัดเจนทั้ง 8 ตัวอย่างที่ทดสอบ โดยเก็บเลือดบนกระดาษซับในอุณหภูมิห้องนาน 7-30 วัน และได้ทดสอบเลือดบนกระดาษซับจากผู้ที่มีอาการปกติ ไม่มีประวัติไข้ผื่นในเวลา 1 เดือนที่ผ่านมาและมี Rubella HI antibody สูง จำนวน 20 ราย พบว่าได้ผลลบทุกราย

ในการทำ Red blood cell suspension อัตราความเข้มข้นจะต้องให้คงที่แน่นอน วิธีที่ดีที่สุดคือปรับความเข้มข้นด้วยเครื่องวัด hematocrit ซึ่งจะทำให้ได้เม็ดเลือดแดงในความเข้มข้นเท่ากันทุกครั้ง การปรับโดยการวัดด้วยไปเปตจะพบว่ามีความคลาดเคลื่อนในแต่ละการทดสอบมาก การ titrate แอนติเจนกับการทำ test ควรจะมีความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดงเท่ากันที่สุดโดยเฉพาะวิธี SPIHIT นี้ใช้แอนติเจนเพียง 1 ยูนิท ซึ่งจะต้องมีความคลาดเคลื่อนไม่ได้ ถ้าการใช้แอนติเจนและเม็ดเลือดแดงไม่พอดีที่ 1 ยูนิทจริง ก็จะมีผลเสียกับการทดสอบ จะได้ค่าผลบวกรปลอมหรือผลลบปลอมได้

การตรวจ specific rubella IgM โดยวิธี solid phase immunosorbent hemagglutination inhibition test (SPIHIT) พบว่ามี sensitivity และ specific สูงมาก ไม่พบผลบวกรปลอมหรือผลลบปลอมเลย วิธีการนี้ง่าย ทำสะดวก และรู้ผลเร็ว สามารถตรวจได้ที่ละหลายตัวอย่าง และทั้งยังสามารถตรวจจากเลือดบนกระดาษซับได้ด้วย มีข้อควรระวังคือการทดสอบต้องให้ความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดงคงที่เสมอ

อ้างอิง

1. Meurman OH. Antibody responses in patients with rubella infection determined by passive hemagglutination inhibition, complement fixation and solid-phase radioimmunoassay tests. *Infect Immun* 1978 Feb; 19 (2) : 369-372
2. วรณา พรรณรักษา, อุทัย สกุลแรมรุ่ง. การตรวจวินิจฉัยโรคหัดเยอรมันโดยดูดซับนำเหลืองด้วย staphylococcal protein A. *จุฬาลงกรณ์เวชสาร* 2529 กรกฎาคม ; 30 (7) : 663-670
3. Caul EO, Smyth GW, Clark KR. A simplified method for the detection of rubella specific IgM employing sucrose density fractionation and 2 mercaptoethanol. *J Hyg (Camb)* 1974 ; 73 : 329-340
4. Hornsleth A, Leerhoy J, Grauballe P, Spanggaard H. Rubella viruses-specific IgM and IgA-antibodies : the indirect immunofluorescent (IF) - technique applied to sera with reduced IgG-concentration. *Acta Pathol Microbiol Scand B* 1974 Oct ; 82 B (5) : 742-747
5. 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
6. Richman DD. The use of staphylococcal protein A in diagnostic virology. *Curr Trop Microbiol Immunol* 1983; 104 : 159-176
7. Chonmaitree T. Staphylococcal protein A in the serologic diagnosis of congenital rubella and toxoplasmosis. *Pediatr Infect Dis* 1982 ; 1 : 228-231
8. 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
9. Bidwell DE, Bartlett A, Voller A. Enzyme immunoassays for viral diseases. *J Infect Dis* 1977 Oct ; 136 Suppl: s 274 - s 278
10. Wallen WC, Mattson JM, Levine PH. Detection of soluble antigen of Epstein-Barr virus by the enzyme linked immunosorbent assay. *J Infect Dis* 1977 Oct ; 136 Suppl : 324-328
11. Yolken RH. Enzyme immunoassays for the detection of infectious antigens in body fluid : current limitations and future prospects. *Rev Infect Dis* 1982 Jan ; 4 (1) : 35-68
12. Land SA, Skurrie IJ, Gibert GL. Rapid diagnosis of herpes simplex virus infections by enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 1984 Jun ; 19 (6) : 868-869
13. Krech U, Wilhelm JA. A solid-phase immunosorbent technique for the rapid detection of rubella IgM by hemagglutination inhibition. *J Gen Virol* 1979 Aug ; 44 (2) : 281-286
14. Van der Logt JT, Van Loon AM, Van der Veen J. Hemadsorption immunosorbent technique for determination of rubella immunoglobulin M antibody. *J Clin Microbiol* 1981 Mar ; 13 (3) : 410-415
15. วรณา พรรณรักษา, ศิริมา ปัทมดิลก. การตรวจแอนติบอดีชนิด IgG และ IgM จากตัวอย่างเลือดบนกระดาษซับ. *กำลังตีพิมพ์*