

การศึกษาหาความสัมพันธ์ของระดับแอนติบอดี ชนิด IgG, IgM และ IgE ต่อ
แกมมาโกลบูลินของม้า ต่อการเกิดภาวะไวเกินแบบที่ I และแบบที่ III ใน
ผู้ป่วยที่ได้รับเซรุ่มที่ทำจากม้า



นางสาว ธนิษฐา จัตรสุวรรณ

ศูนย์วิทยทรัพยากร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาคตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สหสาขาวิชาจุลชีววิทยาทางการแพทย์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

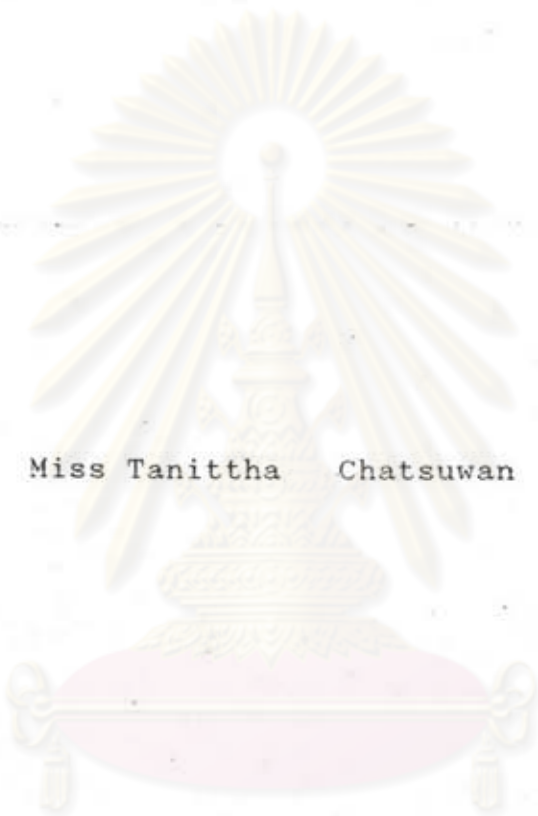
พ.ศ. 2534

ISBN 974-579-105-9

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

017711 117823897

CORRELATION OF SERUM IgG, IgM AND IgE ANTIBODY LEVELS
TO HORSE GAMMA GLOBULINS IN RELATIONSHIP TO
TYPE I AND TYPE III HYPERSENSITIVITIES
TO EQUINE IMMUNE GLOBULIN



Miss Tanittha Chatsuwan

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
Inter-Department of Medical Microbiology
Graduate School
Chulalongkorn University

1991

ISBN 974-579-105-9



Thesis Title Correlation of serum IgG, IgM and IgE antibody levels to horse gamma globulins in relationship to type I and type III hypersensitivities to equine immune globulin

By Miss Tanittha Chatsuwan

Inter-Department Medical Microbiology

Thesis Advisor Professor Praphan Phanuphak, M.D., Ph.D.

Co-Advisor Instructor Wattana phanmoung, M.Sc.

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partail Fulfillment of the Requirements for the Master's degree.

Thavorn Vajrabhaya
 Dean of Graduate School
 (Professor Thavorn Vajrabhaya, Ph.D.)

Thesis committee

Reutai Sakulramung Chairman
 (Associated Professor Reutai Sakulramung, M.D., Ph.D.)

Praphan Phanuphak, M.D. Thesis Advisor
 (Professor Phaphan Phanuphak, M.D., Ph.D.)

Wattana Phanmoung Thesis Co-Advisor
 (Instructor Wattana Phanmoung, M.Sc.)

Thaveesak Teerawattanapong Member
 (Dr. Taveesak Teerawattanapong, Ph.D.)

อชิษฐา ฉัตรสุวรรณ : การศึกษาหาความสัมพันธ์ของระดับแอนติบอดี ชนิด IgG , IgM และ IgE ต่อแกรมมาโกลบูลินของม้า ต่อการเกิดภาวะไวเกินแบบที่ I และแบบที่ III ในผู้ป่วยที่ได้รับ เชื้อที่ฆ่าจากม้า (CORRELATION OF SERUM IgG , IgM AND IgE ANTIBODY LEVELS TO HORSE GAMMA GLOBULINS IN RELATIONSHIP TO TYPE I AND TYPE III HYPERSENSITIVITIES TO EQUINE IMMUNE GLOBULIN) อ.ที่ปรึกษา ศ.นพ.ประพันธ์ ภาณุภาค อ.ที่ปรึกษาร่วม อ.วิเศษ พันธุ์ม่วง, 147 หน้า ISBN 974-579 - 105 - 9

งานที่ศึกษาในวิทยานิพนธ์นี้เพื่อศึกษาลักษณะ Kinetic ของการเกิด antibody response ชนิด IgG และ IgM ต่อ horse gamma globulin ในผู้ป่วยที่ได้รับ Equine rabies immune globulin (ERIG) โดยเทียบความสัมพันธ์ระหว่างแอนติบอดีที่เกิดขึ้นกับอาการของ serum sickness นอกจากนี้ยังได้ศึกษาความสัมพันธ์ของระดับ specific IgE โดยวิธี ELISA และผลของ skin test ในผู้ป่วยก่อนที่จะได้รับ ERIG เทียบกับการเกิด anaphylaxis

จากผลการตรวจผู้ป่วยที่ได้รับ ERIG 104 ราย พบผู้ป่วย serum sickness เพียง 2 ราย (1.9%) ดังนั้นจึงได้นำกลุ่มผู้ป่วย serum sickness 27 ราย ซึ่งถูกส่งมารับการปรึกษา เนื่องจากเกิดผลข้างเคียงจากการให้ ERIG มาทำการศึกษาร่วมด้วย พบว่าในวันที่ 7 หลังได้รับ ERIG ผู้ป่วย serum sickness 22 ราย พบมี specific IgG antibody 21 ราย (95.5%) และ specific IgG และ IgM antibody 8 ราย (36.4%) ในขณะที่ผู้ป่วยซึ่งไม่มีอาการ 102 ราย พบ 29 ราย (100%) และ 4 ราย (19%) ตามลำดับจากการศึกษาชี้ให้เห็นว่า IgG และ IgM ต่อ horse gamma globulin มีความสัมพันธ์กับการเกิด serum sickness ($P < 0.05$) ดังนั้น การตรวจหาแอนติบอดีนี้อาจจะมีประโยชน์ในการวินิจฉัย serum sickness ในรายที่มีอาการไม่แน่ชัด

นอกจากนี้การตรวจหา specific IgE antibody ในผู้ป่วย 131 ราย ก่อนได้รับ ERIG พบว่า 15 ราย (11.5%) ให้ผลบวกโดยวิธี ELISA ส่วน skin test ให้ผลบวก 19 ราย (14.5%) ผลการตรวจหา IgE antibody โดยวิธี ELISA และ skin test มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยผู้ป่วยทุกรายที่ให้ผลบวกในการตรวจโดยวิธี ELISA และโดย skin test ไม่พบการเกิด anaphylaxis ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ถึงแม้การตรวจหาระดับ specific IgE จะมีความสัมพันธ์กับผลของ skin test แต่ไม่สามารถทำนายการเกิด anaphylaxis ในผู้ป่วยที่ได้รับ ERIG ได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาควิชา สหสาขาวิชา
สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางการแพทย์
ปีการศึกษา ๒๕๓๓

ลายมือชื่ออนิสิต อชิษฐา ฉัตรสุวรรณ
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ประพันธ์ ภาณุภาค

พิมพ์ที่สำนักงานคลังข้อเขียนบัณฑิตภายในกรมส่งเสริมสุขภาพนี้เพียงเล่มเดียว

TANITHA CHATSUWAN : CORRELATION OF SERUM IgG , IgM AND IgE ANTIBODY LEVELS TO HORSE GAMMA GLOBULINS IN RELATIONSHIP TO TYPE I AND TYPE III HYPERSENSITIVITIES TO EQUINE IMMUNE GLOBULIN. THESIS ADVISOR : PROF. PRAPHAN PHANUPHAK , M.D. , Ph.D. , THESIS CO-ADVISOR : INSTRUCTOR WATTANA PHANMOUNG , M.Sc. , 147 pp. ISBN 974-579-105-9.

The work reported in this thesis was aimed at studying the kinetics of IgG and IgM anti - horse gamma globulin (ERIG) administration in responses after wquine relation to the development of serum sickness. In addition , pre - immunization levels of IgE antibody to horse gamma globulin were compared with skin test results and with the anaphylactic adverse effects antibodies.

of the 104 ERIG recipients in the prospective study , only 2 developed serum sicknes. An additional set of 27 serum sickness patients referred to us as a result of ERIC complication ware also included for immunologic studies. 21 (95.5%) and 8 (36.4%) of the 22 serum sickness patients evaluated on day 7 had IgG and IgM antibodies respectively while all 21 patients (100%) and 4 (19%) of the 21 patients evaluated on day 14 had IgG and IgM antibodies of the 102 asymptomatic patients , specific IgG and IgM antibodies were present in 4 (3.9%) and 2 (2%) patients respectively on day 7 and in 29 (28.4%) and 3 (2.9%) patients respectively on day 14. Our results indicate good correlation between the development of IgG and IgM antibodies detection may be of diagnostic value in serum sicknes patients with incomplete manifestations.

of the 131 patients who had pre - immunization sera , 15 (11.5%) and 19 (14.5%) had positive IgE antibody and positive skin test respectively. Good correlation was found between ELISA and skin test ($P < 0.05$). However , anaphylaxis did not occur in any of the skin test - positive or IgE - positive individuals following ERIG administration. This indicate that skin test and IgE antibody determinations althought correlated , have no predictive value in ERIG - associated anaphylaxis.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา สหสาขาวิชา
สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางการแพทย์
ปีการศึกษา 2533

ลายมือชื่อนิสิต
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
.....

ACKNOWLEDGEMENTS



The present investigator wishes to express her deep gratitude to the following, who have helped in making this thesis possible

Dr. Praphan Phanuphak, Professor of the Department of Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, the advisor, for his invaluable advice and indispensable help in supervising this thesis.

Mr. Wattana Panmoung, Department of Medical Technology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, the co-advisor, for his invaluable advice in this thesis.

Dr. Kamjorn Tatiyakavee, Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University for his invaluable advice on statistical analysis.

Staffs of the Queen Saovabha Memorial Institute, Thai Red Cross Society, for helping in specimen collection.

Sincere thanks to all persons in the Department of Microbiology and all graduate students for providing facilities and encouragement.

Finally, the investigator is deeply indebted to her family for their help, encouragement and understanding.



CONTENTS

	PAGE
THAI ABSTRACT	iv
ENGLISH ABSTRACT	v
ACKNOWLEDGEMENTS	vi
CONTENTS	vii
LIST OF TABLES	viii
LIST OF FIGURES	x
ABBREVIATIONS	xi
CHAPTER	
1 INTRODUCTION	1
2 LITERATURE REVIEW.....	7
3 MATERIALS AND METHODS.....	26
4 RESULTS.....	39
5 DISCUSSION	93
REFERENCES	102
APPENDIX I	115
APPENDIX II	117
BIOGRAPHY	147

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF TABLES

Table	Page
1. Stored mediators of anaphylaxis.....	22
2. Generated mediators of anaphylaxis.....	23
3. Common causes of IgE-mediated anaphylaxis.....	24
4. The clinical data of 27 serum sickness patients.....	30
5. Optimal conditions of ELISA test for the detection of IgG anti-horse gamma globulin....	68
6. Optimal conditions of ELISA test for the detection of IgE anti-horse gamma globulin....	69
7. Optimal conditions of ELISA test for the detection of IgM anti-horse gamma globulin....	70
8. Precision analysis of ELISA test for detection of IgG anti-horse gamma globulin.....	71
9. Precision analysis of ELISA test for detection of IgM anti-horse gamma globulin.....	72
10. Precision analysis of ELISA test for detection of IgE anti-horse gamma globulin.....	73
11. Correlation of day \pm 7 IgG anti-horse gamma globulin on day 7 in serum sickness.....	74
12. Correlation of day \pm 14 IgG anti-horse gamma globulin and serum sickness.....	74
13. Anti-horse gamma globulin IgG antibodies in 14 serum sickness patients who had paired sera on day \pm 7 and day \pm 14.....	75

14. The validity of indirect ELISA for the determination of IgG anti-horse gamma globulin at various cut off titers, using the clinical symptoms and signs of serum sickness as the gold standards..... 77
15. The validity of indirect ELISA for the determination of IgG anti-horse gamma globulin on day 14 at various cut off titers, using the clinical symptoms and signs of serum sickness as the gold standards..... 78
16. Correlation of IgM anti-horse gamma globulin and serum sickness on day 7..... 79
17. Correlation of IgM anti-horse gamma globulin and serum sickness on day 14..... 79
18. The validity of indirect ELISA for the determination of IgM anti-horse gamma globulin on day 7 evaluated at various cut off level titers, using the clinical symptom and signs of serum sickness as the gold standards..... 80
19. The validity of indirect ELISA for the determination of IgM anti-horse gamma globulin on day 14 evaluated at various cut off level titers, using the clinical symptom and signs of serum sickness as the gold standards..... 81
20. Specific IgE antibody detected by ELISA and skin test..... 82
21. Correlation of specific IgE antibody detected by ELISA and skin test..... 82

LIST OF FIGURES

Figure	Page
1. Inhibition of IgG anti-horse gamma globulin by horse gamma globulin.....	83
2. Inhibition of IgM anti-horse gamma globulin by horse gamma globulin.....	84
3. Inhibition of IgE anti-horse gamma globulin by horse gamma globulin.....	85
4. IgG anti-horse gamma globulin titers in the seropositive individuals before and 7 and 14 days after ERIG administration.....	86
5. IgG anti-horse gamma globulin titers in a 29 serum sickness patients on day \pm 7 and \pm 14.	87
6. IgM anti-horse gamma globulin titers in the 4 seropositive patients before and 7 and 14 days after ERIG administration.....	88
7. IgM anti-horse gamma globulin titers in a total of 29 serum sickness patients on day \pm 7 and \pm 14.....	89
8. IgM anti-horse gamma globulin titers in a special set of 14 serum sickness patients who had paired sera (day \pm 7 and \pm 14).....	90
9. Correlation between IgG and IgM anti-horse gamma globulin.....	91
10. IgE anti-horse gamma globulin titers in the seropositive individuals before ERIG administration.....	92

ABBREVIATIONS

°C	degree celsius
ed	editor, edited by
eg	exempli gratia
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbance Assay
ERIG	Equine Rabies Immune Globulin
et al	et alii (Latin) and other
g	gram
hr	hour
IgE	Immunoglobulin E
IgG	Immunoglobulin G
IgM	Immunoglobulin M
mg	milligram
ml	millilitre
min	minute
nm	nanometer
OPD	O-phenylenediamine dihydrochloride
PBS	Phosphate Buffer Saline
rpm	rotate per minute
RT	Room Temperature
ug	microgram
ul	microlitre