

## 장티푸스환자의 혈청내 *Salmonella typhi*에 대한 IgG subclass항체의 분포\*

서울대학교 의과대학 미생물학교실 및 한림대학 의학부 미생물학교실<sup>1</sup>

김영중 · 황응수 · 강재승 · 차창룡 · 장우현 · 김윤원<sup>1</sup> · 조민기<sup>1</sup> · 민창홍<sup>1</sup>

—Abstract—

### Measurement of the Levels of IgG Subclasses Reactive to *Salmonella typhi* in the Sera of Patients with Typhoid Fever

Young-Jung Kim, Eung-Soo Hwang, Jae-Seung Kang, Chang-Yong Cha, Woo-Hyun Chang,  
Yoon-Won Kim<sup>1</sup>, Min-Ki Cho<sup>1</sup> and Chang-Hong Min<sup>1</sup>

Department of Microbiology, College of Medicine, Seoul National University and Department of  
Microbiology, Faculty of Medicine, Hanlym University<sup>1</sup>

To diagnose the typhoid fever rapidly and accurately in clinically suspected patients, the levels of IgG subclass antibody were measured by enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA).

With symptom, blood culture and agglutination test, tested persons were categorized into 6 groups as typhoid fever, FUO, paratyphi A or B, other bacterial infections, cancers, and control.

ELISA was performed on the polyvinyl chloride plates coated with killed whole cell ( $10^8$  cell/ml) of *S. typhi* 0901W by poly-L-lysine applied as binding substance (and polyvinyl chloride as solid phase). The distribution of the level of IgG subclass antibodies in each group was analyzed and compared with other groups.

The results obtained were summarized as follow:

1. The optimal dilution of the sera from patients with typhoid fever was 1:160, and those of the sheep anti-human IgG subclass and the peroxidase conjugated rabbit anti-sheep IgG were 1:4000 and 1:5000, respectively.

2. The absorbance levels of IgG subclass in the sera of typhoid fever patients were as follows;

a) IgG1 value is  $0.439 \pm 0.110$

b) IgG2 value is  $0.416 \pm 0.165$

c) IgG3 value is  $0.449 \pm 0.145$

d) IgG4 value is  $0.525 \pm 0.154$

IgG subclass levels in the sera of typhoid patients were much higher than in control group and patient with paratyphi A or B as well as other infectious diseases. The sensitivity and the specificity in differential diagnosis of typhoid fever and other febrile diseases were 92% and 79% in the assay of IgG1 respectively, whereas those in the assay of IgG2 were 97% and 72%, respectively (above absorbance 0.3).

3. The absorbance levels of IgG subclass in the serial sera of typhoid fever patients tend to decrease to the level of absorbance 0.3 in 10 months from the onset of illness.

4. The order of absorbance levels of IgG subclass in the serum of each group were typhoid fever, paratyphi A or B, other infectious diseases, control and cancer.

5. For the serodiagnosis of typhoid fever against other febrile diseases, the sensitivity and the specificity in the assay of IgG2 activity were 76% and 93% in absorbance 0.4, respectively.

\* 본 연구는 1986년 문교부 학술연구조성비 및 1986년도 서울대학교병원 임상연구비의 지원에 의하여 수행되었음.

6. In the distribution of the level of each IgG subclass in the sera of FUO patients which were suspected of typhoid fever, the positive rate was ranged from 36% to 82%. This suggest that more than 50% of FUO patients are caused by *S. typhi*.

**Key Words:** Typhoid fever, IgG subclass, ELISA

## 서 론

장티푸스 환자가 고열 등으로 병원에 오는 것은 감염후 약 3~5주<sup>3,7,10</sup> 혈청내 항체의 양적인 증가뿐 아니라 immunoglobulin(Ig) isotype의 변동이<sup>5,21,27</sup> 있다. 그러나 Widal 응집반응<sup>6,7,9,18,26</sup>과 혈구응집반응으로는<sup>5,18</sup> Ig isotype의 변화를 측정할 수 없다. 더구나 장티푸스는 *Salmonella typhi*에 의한 감염이므로 lipopolysaccharide(LPS) 이외의 항원 성분에 의한 항체를 생산하여<sup>5,17</sup> Ig isotype 항체를 구별하여 측정하는 것은 장티푸스의 조기진단에 의의<sup>13,23</sup> 있는 것으로 보고되어 왔다. 특히 황등<sup>11</sup>의 보고에 의하면 IgG 항체는 균에 분리된 환자에서 그 분포가 응집항체역가의 양성 또는 음성에 관계없이 모두 양성반응을 보였으며 균이 분리되지 않은 환자의 경우에는 절반정도가 양성반응을 보였다. 응집항체역가가 낮으면서 균이 분리된 경우에는 IgG 항체의 증가가 주목되었다. Hirschl 등<sup>20</sup>은 장티푸스를 혈청학적으로 진단할 때 nonendemic area에서는 IgM 항체를, endemic area에서는 IgG 항체를 검사하는 것이 의의가 있었다고 보고하였다.

따라서 마우스에서 LPS에 대한 항체로 IgG3 및 IgG2b 항체가 뚜렷하게 증가하는 것<sup>19</sup>으로 보아 장티푸스 환자에서도 *S. typhi* 항원성분에 따라 특정 IgG subclass의 증가 뿐만 아니라 감염시기에 따라 특정 subclass의 증가 혹은 감소가 있을 것이다.

이에 따라 저자들은 혈청내의 Ig isotype 항체를 구별하여 측정하려고 최근에 개발된 효소면역 측정법(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)<sup>12,13,14,19,21,22</sup>을 이용하여 장티푸스 환자 혈청내에서 IgG subclass 중 어느것이 유의하게 증가하여 진단에 이용될 수 있을 것인가, 그리고 감염기간에 따라서 혈청내에서는 subclass가 어떻게 변화하는가를 관찰하여 보고 하는 바이다.

## 방법 및 재료

### 1. 실험대상

서울대학교 병원에 입원한 환자 중에서 세균학적으로 장티푸스로 확인된 군(37명), 장티푸스로

의심이 되었으나 세균이 동정되지 않고 Widal검사가 정상인 불명열군(11명), paratyphi A 혹은 B로 확인된 군(6명), 다른 감염성 고열질환군(12명), 그리고 고열이 있는 암환자군(6명)으로 나누었다. 대조군(38명)으로서는 장티푸스의 병력이 없고 최근 3년동안 예방주사를 맞은적이 없는 정상활동을 하는 서울대학교 의과대학생을 선정하였다. 장티푸스군의 일부(9명)는 환자혈청을 감염기간별로 채취하여 실험에 사용하였다.

### 2. 효소면역측정법

#### 1) 균종 및 항원의 제작

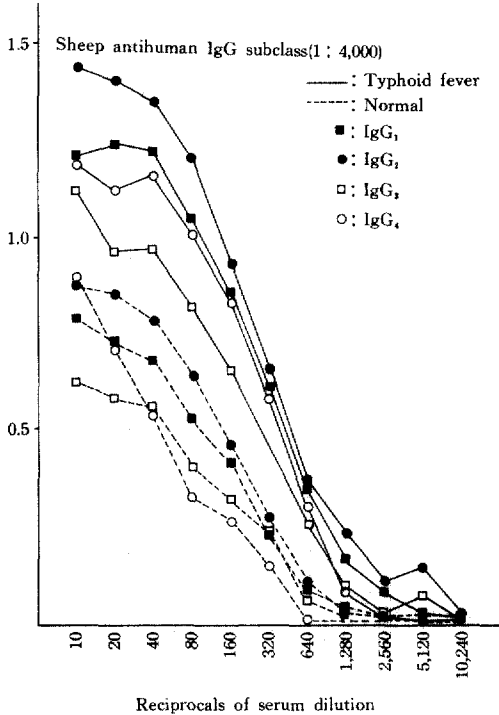
균종으로는 서울대학교 의과대학 미생물학교실에서 제대보관중인 *Samonella typhi* 0901W를 nutrient broth에 18시간동안 배양하여 항원제작에 사용하였다. 균체항원을 얻기 위하여 배양된 균액을 2시간 30분동안 100°C로 처리하였다. 이렇게 준비한 균액을 4°C에서 1,400×g로 30분간 원심침전하였다. 상청액을 버리고 phosphate buffered saline(PBS, pH7, 2)으로 1,400×g로 3회 원심침전하여 세척한 뒤 0.3% formalinized saline으로 균을 제부유시켰다. 항원부착시에는 흡광도를 비교하여 균량을 결정하였다.

#### 2) 혈청과 IgG subclass에 대한 항체 및 효소의 최적희석 정도의 결정

항원부착은 김 등<sup>3</sup>의 방법으로 다음과 같이 시행하였다. Polyvinyl chloride plate(Titertek®, Immuno Assay Plate Flow Lab. Cat. # 77-176-05 activated, Lot No. 3-U1-N2)를 사용하여 각 well에 50μl poly-L-lysine(Sigma Chemical Co. P-1886)을 분주하고 실온에서 1시간 방치한 후 제거하였다. PBS(pH7.2)에 희석된 10<sup>8</sup> cell/ml의 균체항원을 각 well에 50μl씩 분주하고 2,000×g로 10분간 원심침전시켰다. PBS에 희석한 0.5% glutaraldehyde를 각 well에 50μl씩 첨가하고 15분간 실온에서 방치하였다. PBS로 2회 세척하고 100mM glycine과 0.1% bovine serum albumin(BSA)이 포함된 RPMI 1640 용액을 각 well에 100μl씩 분주하고 실온에서 30분간 방치하였다. PBS로 2회 세척하고 0.05% Tween 20이 포함된 3% BSA-PBS로 37°C에서 1시간동안 반응시켜 nonspecific background를 방지하였다. 환자 혈청은 1:10에서 1:10,240까지

## 성 적

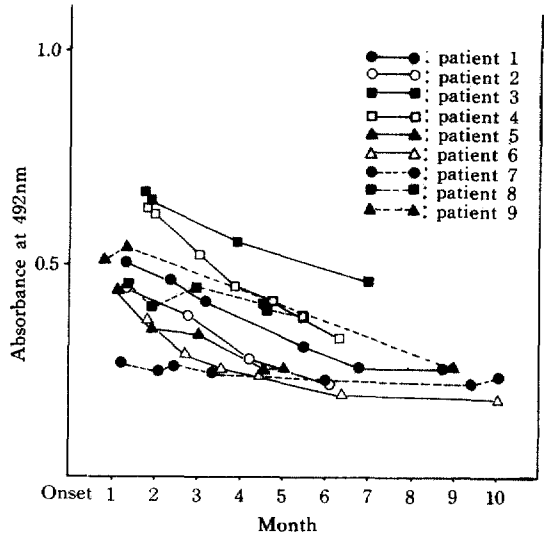
2배 계단희석하여 각 well에 50 $\mu$ l씩 분주하고 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 반응시켰다. 3회 세척하고 각 sheep anti-human IgG subclass인 IgG1(Miles Scientific, Cat. No. 64-310, Lot No. 0019) IgG2(Miles Scientific, Cat. No. 64-311, Lot No. 0018), IgG3(Miles Scientific, Cat. No. 64-312, Lot No. 0020), IgG4(Miles Scientific, Cat. No. 64-313, 0022)를 1 : 500에서 1 : 16,000까지 2배 계단희석하여 각 well에 50 $\mu$ l씩 분주하고 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 반응시킨 후 3회 세척하였다. 여기에 peroxidase conjugated rabbit anti-sheep IgG(Code numer:313-3503, Lot No. 3555)를 1 : 5000에서 1 : 80,000까지 2배 계단희석액을 각 well에 50 $\mu$ l씩 분주하고 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 반응시킨 후 5회 세척하였다. 4mg의 o-phenyldiamine을 10ml의 phosphate citrate buffer(pH5.0)에 완전히 녹인 후 20 $\mu$ l의 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 첨가하여 만든 peroxidase에 대한 기질 용액을 well당 50 $\mu$ l씩 분주하여 30분동안 실온에 반응시켰다. 그 후 2M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 각 well에 50 $\mu$ l씩 첨가하여 발색반응을 정지시켰다. ELISA 판독기(Titertek, Multiskan, Flow Lab.)를 이용하여 반응정도를 492nm에서 흡광도(absorbance)로 측정하였다.



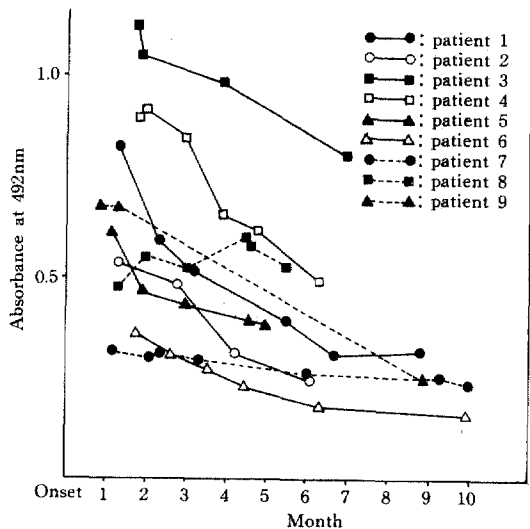
**Fig. 1.** Reactivity of IgG subclass against killed whole cell of *S. typhi* coated on polyvinyl chloride plate by poly-L-lysine to use peroxidase conjugated anti-sheep IgG rabbit sera (1 : 5,000).

### 1. 혈청희석정도와 IgG subclass에 대한 항체 및 효소의 최적농도 결정

환자혈청을 1 : 10에서 1 : 10,240까지, sheep anti-human IgG subclass를 1 : 500에서 1 : 16,000까지 그리고 peroxidase conjugated rabbit anti-sheep IgG를 1 : 5000에서 1 : 80000까지 2배 계단희석하여 모든 IgG subclass에 대해 양성대조군의 흡광도가 높은 값을 나타내고, 음성대조군과 비교하여 분리도가 가장 높은 희석정도를 최적 농도로 결정 하



**Fig. 2.** IgG1 reactivity of serially collected sera from typhoid fever patients measured by ELISA.



**Fig. 3.** IgG2 reactivity of serially collected sera from typhoid fever patients measured by ELISA

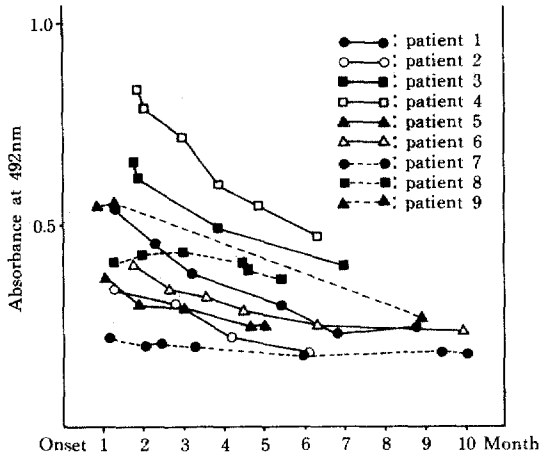


Fig. 4. IgG3 reactivity of serially collected sera from typhoid fever patients measured by ELISA.

였다. 이때 환자혈청의 최적농도는 1 : 160, sheep anti-human IgG subclass는 1 : 4,000, 그리고 peroxidase conjugated rabbit anti-sheep IgG는 1 : 5,000이었다 (Fig.1).

### 2. 장티푸스환자의 혈청내에서 *S. typhi*에 대한 IgG subclass 역가의 측정

Table 1에 제시된 바와 같이 *S. typhi*에 대한 IgG subclass 역가는 다음과 같다.

IgG1:  $0.439 \pm 0.110$ , IgG2:  $0.517 \pm 0.187$ , IgG3:  $0.449 \pm 0.145$ , IgG4:  $0.525 \pm 0.154$ 이었다.

### 3. 장티푸스환자에서 감염기간에 따른 IgG subclass의 변화

Fig. 2~5와 같이 IgG subclass 함광도가 10개월 내에 0.3이하로 감소하는 경향이 있고, 3개월에서 7개월 사이에 급속히 하강하였다. 그러나 IgG subclass에 따른 차이는 유의하지 않았다.

### 4. 장티푸스와 장티푸스이외의 발열질환군에서 혈청내 *S. typhi*에 대한 IgG subclass의 분포비교

Table 1. Reactivity of IgG subclasses to *S. typhi* in the sera of patients with typhoid fever and other febrile diseases measured by ELISA

Diseases	No. of patients	IgG Subclasses			
		IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
Typhoid fever	37	$0.439 \pm 0.110^*$	$0.517 \pm 0.187$	$0.449 \pm 0.145$	$0.525 \pm 0.154$
Paratyphi A or B	6	$0.324 \pm 0.100$	$0.339 \pm 0.112$	$0.344 \pm 0.099$	$0.369 \pm 0.116$
Other infectious diseases	12	$0.215 \pm 0.083$	$0.220 \pm 0.092$	$0.237 \pm 0.104$	$0.249 \pm 0.094$
Cancer	6	$0.153 \pm 0.075$	$0.141 \pm 0.086$	$0.095 \pm 0.067$	$0.179 \pm 0.112$
Normal	38	$0.185 \pm 0.039$	$0.178 \pm 0.043$	$0.173 \pm 0.028$	$0.176 \pm 0.040$

\*: absorbance at 492nm(mean  $\pm$  standard deviation)

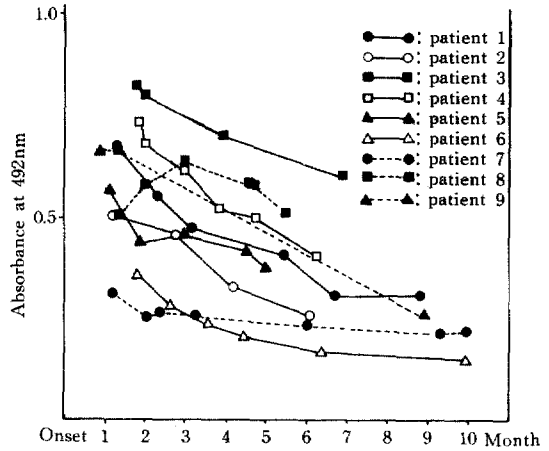


Fig. 5. IgG4 reactivity of serially collected sera from typhoid fever patients measured by ELISA.

Table 1에서와 같이 IgG subclass 함광도는 장티푸스군, paratyph A 혹은 B군, 다른 감염성 고열질환군, 대조군, 암에 의한 고열군순으로 높았다.

### 5. 장티푸스이외의 발열질환군에 대한 장티푸스의 감별진단에서 IgG Subclass의 특이도와 민감도

Table 2에서와 같이 양성판정 함광도로 0.3을 기준으로 했을 때 IgG2의 민감도와 특이도는 각각 97%, 72%이고, IgG1에서는 각각 92%와 79%였다. 0.4를 기준으로 했을 때 IgG2에서 민감도와 특이도가 각각 76%와 93%였다.

### 6. 불명열군에서의 함광도에 따른 양성판정 결과

Table 3에서 보면 IgG subclass에 대한 함광도가 0.3이상일때는 최고 82%, 0.4이상일때는 최저 36%에서 양성으로 나타났다.

### 고 찰

IgG subclass의 정상인 혈청내에서 분포는 IgG1

**Table 2.** The sensitivity and specificity of IgG subclass in the diagnosis of typhoid fever according to different absorbance

IgG subclass	A : 0.4		A : 0.3	
	sensitivity	specificity <sup>a</sup>	sensitivity	specificity
IgG1	65%	93%	92%	79%
IgG2	76%	93%	97%	72%
IgG3	59%	93%	92%	69%
IgG4	76%	93%	97%	59%

<sup>a</sup>: The sensitivity and specificity of typhoid fever were compared with other febrile diseases (paratyphi A or B, other infectious diseases and cancer).

**Table 3.** The positive rate of the sera from FUO<sup>a</sup> patients according to absorbance of IgG subclass measured by ELISA

IgG subclass	Mean ± S.D.	Positive rate	
		A : above 0.4	A : above 0.3
IgG1	0.405 ± 0.146	55%	73%
IgG2	0.416 ± 0.165	36%	82%
IgG3	0.423 ± 0.159	45%	82%
IgG4	0.449 ± 0.169	45%	82%

<sup>a</sup>: Fever of unknown origin(This was suspected of typhoid fever but the causative agent was not isolated and Widal test was within normal limit). The number of patients with FUO was 11.

(60.9%), IgG2(29.6%), IgG3(5.3%), IgG4(4.2%)이며<sup>25, 26</sup> IgG subclass 분포는 IgG분자의 heavy chain과 electrophoretic mobility 그리고 staphylococcal protein A와의 반응 및 생물학적인 기능에 따라 차이가 난다. 최근 bacteria항원 및 virus 질병에 따른 특정 인형 IgG subclass 증가가 보고되었다. Sqnqvist 등<sup>27</sup>에 의하면 Herpes simplex에서는 IgG1과 IgG3, Varicella에서는 IgG3 그리고 Zoster에서는 IgG1이 뚜렷하게 증가했다. IgG2는 Herpes Simplex와 Varicella-Zoster에서는 낮은 반응을 나타냈고, 감염기간에 따른 IgG subclass의 변화는 IgG3가 첫번째로 IgG1이 나중에 증가하였다. 여기서 IgG3가 total IgG의 5%인데도 첫번째로 반응을 보인 것은 특이할만 하다. Linde 등<sup>28</sup>에 의하면 Cytomegalovirus 질환에서 IgG3가 회복기 초기에 초기에 증가하였다. Morell 등<sup>29</sup>은 Hepatitis B surface 항원에 대해 IgG1과 IgG3가 증가함을 보고하였다.

Mortimer 등<sup>30</sup>의 보고에 의하면 Streptococcal M protein에 대한 보체결합항체중에서 IgG3가 주로 증가했고 Sieber 등<sup>31</sup>에 의하면 IgG2가 polysaccharide항원에 대한 항체생성능력의 표식이 되었다.

장티푸스환자 혈청내에서 killed whole cell 항원을 사용해서 IgG subclass를 측정 한 결과 subclass에 따른 유의한 차이는 없어 이상의 열거한 성격과는 다른 결과를 나타내었다.

ELISA는 항원항체의 일차반응을 검출하는 것이어서 응집력이 약한 항체도 검출할 수 있으며 *S. typhi*가 체내감염시 LPS뿐만 아니라 다른 항원성분에 의한 항체도 생성될 것이며<sup>5, 16, 17, 27</sup> 특히 IgM항체는 1~3개월간만 지속하므로 IgG 및 IgM항체의 측정도 중요하다<sup>4, 5, 12</sup>. 황 등<sup>11</sup>의 실험에서 IgG항체를 측정하는 것이 응집항체역가를 측정하는 것보다 민감도가 뛰어나았다. 특히 응집항체가 낮으며 균이 분리된 경우에 IgG항체가 주목되었다. Hirschl 등<sup>32</sup>은 장티푸스환자에서 microagglutination test에 의한 응집항체가 nonendemic area인 Austria에선 93%, endemic area인 Hong Kong에선 단지 50%의 양성율을 보였고 IgM에 대한 효소면역측정법에서도 각각 93%와 53%의 비슷한 결과를 얻었다. 반면에 IgG 경우에는 Austria에선 69%, 그리고 Hong Kong에선 88%가 양성율을 보였다. 따라서 Hong Kong 같은 endemic area에서 ELISA를 이용한 IgG의 혈청학적 진단이 유용함을 보고하였다. 장티푸스 환자 혈청내에서 항장티푸스 IgG를 검색한 Hirschl 등<sup>32</sup>은 민감도가 88%인데 비하여, IgG subclass를 검색한 본 실험에서는 ELISA 흡광도의 양성판정 기준을 0.3으로 했을 때 IgG2에선 97%의 민감도를, 장티푸스이외의 발열질환군에 대해 72%의 특이도를 나타냈고, IgG1에서는 92%의 민감도와 79%의 특이도를 보여 IgG보다 IgG subclass의 성적이 좋았다. 0.4로 기준했을 때는 IgG2

에서 민감도가 76% 이고 특이도가 93% 였다. 흡광도가 0.3이상이면 *S.typhi* 진단에 아주 유용하고, IgG2와 IgG4에서 흡광도가 0.4이상일 때는 장티푸스 이외의 발열질환을 배제할 수 있는 것으로 사료되었다. 표 3에서 보는 바와 같이 불명열군에선 IgG subclass에 대한 흡광도가 0.3이상일 때는 최고 82% 0.4이상일 때는 최저 36%에서 양성으로 나타났으며 이것은 장티푸스로 의심되는 불명열중에서 상당한 부분이 *S.typhi*가 직접적인 원인으로 추정되었다.

Paratyphi A와 paratyphi B군은 흡광도가 전체적으로 장티푸스 보다는 낮으나 다른 감염성발열질환이나 암에 의한 고열군보다는 높게 나타났다. 이것은 paratyphi A 혹은 B가 somatic(O) antigen 12를 *S.typhi*와 공유하고 있어서 나타나는 것으로 사료되었다. 암에 의한 고열군에선 IgG subclass 흡광도가 정상범위에 속해 있어 통계적으로 유의하지 않았다.

장티푸스환자에서 감염시기별로 채혈을 한 경우에선 모든 IgG subclass가 10개월 이내에 흡광도가 3.0이하로 되돌아오고 3개월에서 7개월 사이에 급속히 떨어짐을 나타냈으나 IgG subclass에 따른 차이는 유의하지 않았다.

본 실험을 토대로 앞으로 killed whole cell을 solid phase에 붙인 ELISA 방법으로 질병경과에 따른 IgG subclass 항체역가의 변화를 측정하므로써 장티푸스 조기진단의 지침을 수립할 수 있고, 예후판정 및 치료에 이용될 수 있을 것이다.

## 결 론

장티푸스로 의심되는 환자의 혈청내 IgG subclass 항체의 변동을 추적해서 그 분포를 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 장티푸스환자의 혈청내 IgG subclass의 분포는 IgG1 :  $0.439 \pm 0.110$ , IgG2 :  $0.517 \pm 0.186$ , IgG3 :  $0.449 \pm 0.145$ , IgG4 :  $0.525 \pm 0.154$ 이었다.
2. 장티푸스 이외의 발열질환군에 대한 장티푸스의 민감도와 특이도는 흡광도를 0.3으로 기준했을 때 IgG1은 92%와 79%였고 IgG2는 97%와 72% 였다.
3. 장티푸스 환자에서 감염기간별로 채취한 혈청내에 IgG subclass의 변화는 10개월이 지나면 흡광도가 0.3이하로 감소하는 경향이 있다.
4. 불명열환자에서의 IgG subclass 분포는 흡광도 양성판정기준을 0.3으로 했을 때는 최고 82%에서, 0.4로 했을 때는 최저 36%에서 양성으로 나타났다.

## 참 고 문 헌

- 1) 계기식, 김예홍, 최강원, 황응수, 국윤호, 이승훈, 차창용: 장티푸스의 혈청학적 진단에 효소결합면역측정법(ELISA)의 적용실험. 대한미생물학회지, **18**:73, 1983.
- 2) 김은상, 최호섭, 이성동, 이상계, 김만재: 장티푸스 288례에 대한 관찰. 대한내과학회잡지, **18**:605, 1975.
- 3) 김윤원, 황응수, 국윤호, 최강원, 김익상, 차창용, 이승훈: 효소면역 측정법을 위한 장티푸스 균체항원의 부차방법. 대한미생물학회지, **20**:91, 1985.
- 4) 노병호, 김노경: 장티푸스환자 혈청내의 Immune Globulin에 관한 연구. 대한내과학회지, **16**:73, 1973.
- 5) 박상곤, 한동섭, 전도기: 장티푸스환자 혈청의 Immunoglobulin에 관한 연구. 중앙의학, **25**:17, 1973.
- 6) 박복음, 박성호, 김정현, 이태석, 조영철, 도혈금: 장티푸스 456례에 대한 임상적 관찰. 대한내과학회잡지, **20**:284, 1977.
- 7) 이창연, 임희철, 이방현, 이동후, 박경남, 이정희, 박승철, 김종실: 장티푸스환자 257례에 대한 임상적 고찰. 대한내과학회잡지, **20**:291, 1977.
- 8) 이현학: 장티푸스진단에서의 혈구응집반응. 종합의학, **8**:1017, 1963.
- 9) 이호용, 박규연, 고영식, 이해선, 변기수: 장티푸스 561례에 대한 임상적 관찰. 대한내과학회잡지, **21**:547, 1978.
- 10) 정재현, 정구현, 정희영: 사의 장티푸스환자에 관한 임상적 관찰. 대한내과학회잡지, **17**:418, 1974.
- 11) Hwang ES, Cho MJ, Cha CY, Choe KW, Lee SH, Chang WH: Serodiagnosis of typhoid fever by enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Korea Soc. Microbiol.* **21**:387, 1986.
- 12) Beasley WJ, Joseph S.W and Weiss E: Improved serodiagnosis of Salmonella enteric fevers by Enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microb.* **13**:106, 1981.
- 13) Carlsson HE, Lindberg AA and Hammarstrom S: Titration of antibodies to Salmonella O antigens by enzyme-linked immunosorbent assay. *Inf. Immun.* **6**:703, 1972.

- 14) Carlsson HE, Lindberg AA, Hammarstrom S and Ljungren A: Quantitation of Salmonella O antibodies in human sera by enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA). *Int. Archs Allergy Appl. Immun.* **48**:485, 1975.
- 15) Chau and Ng MH: Differential agglutination of particulate Vi and O antigens by the IgM and IgG class antibodies. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* **56**:39, 1978.
- 16) Countinho A, Benner R, Mariana B, Luciana F, Holmberg D, Ivars F Martinez-AC and Pettersson S: A "trans" perspective on the control of Immunoglobulin C gene expression. *Immunological Rev.* **67**:87, 1982.
- 17) Espersen F, Hertz JB, Hoiby N and Mogensen HH: Quantitative immunoelectrophoretic analysis of *Salmonella typhi* antigens and of corresponding antibodies in human sera, *Acta Path Microbiol. Scand. Sect. B* **88**:237, 1980.
- 18) Freter R: Agglutinin titration(Widal) for the diagnosis of enteric fever and other enterobacterial infections, p460, in Manual of Clinical Immunology, second edition, edited by Rose NR and Friedman H, American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1980.
- 19) Granfors K: Measurement of Immunoglobulin M, IgG and IgA antibodies against *Yersinia enterocolitica* by enzyme-linked immunosorbent assay: persistence of serum antibodies during disease, *J. Clin. Microb.* **9**:336, 1979.
- 20) Hirschl A, Stanek G, Rotter ML, Chau PY Niemetz AH: Antibody response to somatic and antigen of *Salmonella typhi*. in areas endemic and non-endemic for typhoid fever, *Infect Control*, **6**:110, 1985.
- 21) Kenny K and Herzberg M: Early antibody response in mice to either infection or immunization with *Salmonella typhimurium*. *J. Bact.* **93**: 773, 1967.
- 22) Keren DF: Enzyme-linked immunosorbent assay for immunoglobulin G and immunoglobulin A antibodies to *Shigella flexneri* antigens., *Inf. Immun.* **24**:441, 1979.
- 23) Linde GA, Hammarstrom L, Persson MAA, Swith CIE, Sundqvist VA and Wahren B: Virus-specific antibody activity of different subclasses of immunoglobulin G and A in Cytomegalovirus infections. *Infect. Immun.* **42**: 237, 1983.
- 24) Morell A, Roth-Wicky B and Skvaril F: Immunoglobulin G subclass restriction of antibodies against hepatitis B surface antigen. *Infect. Immun.* **39**:565, 1983.
- 25) Morell A, Skvaril F, Steinberg AG, Van Loghem E and Terry WD: Correlations between the concentrations of the four subclasses of IgG and Gm allotypes in normal human sera. *J. Immunol.* **108**:195, 1972.
- 26) Mortimer GE and Widdowson JP: Predominance of Immunoglobulin G subclass 3 among the complement fixing antibodies to streptococcal M-associated protein. *Clin. Exp. Immunol.* **37**:247, 1979.
- 27) Pike, RM, Schjzle ML and Chandler CH: Agglutinating and precipitating capacity of rabbit anti-*Salmonella typhosa*  $\gamma$ G and  $\gamma$ M antibodies during prolonged immunization *J. Bact.* **92**:880, 1966.
- 28) Reynolds DW, Carpenter RL and Simon W H: Diagnostic specificity of Widal's reaction for typhoid fever. *JAMA* **214**:2192, 1970.
- 29) Riese WF, Skvaril F and Braun DG: Natural infection of man with group A streptococci. levels, restriction in class, subclass and type, and clonal appearance of polysaccharide-group-specific antibodies. *Scand. J. Immunol.* **5**: 383, 1976.
- 30) Sieber GR, Schur PH, Aisenberg AL, Wetzman SA and Chiffman G: Correlation between serum IgG-2 polysaccharide antigens. *N. Engl. J. Med.* **303**:178, 1980.
- 31) Sundqvist VA, Linde A and Wahren B: Virus-specific Immunoglobulin subclass in Herpes simplex and Varicella-Zoster virus infections. *J. Clin Microbiol.* **20**:94, 1984.
- 32) Voller A, Bidwell D and Bartellet A: Enzyme-linked immunosorbent assay, p359, in Manual of Clinical Immunology second edition, edited by Rose NR and Friedman H, American Society for Microbiology, Washington, D. C., 1980.
- 33) Winkelhake JL: Immunoglobulin structure and effector functions. *Immunochemistry* **15**: 695, 1978.