



IMMUNOLÓGIAI ÉS
BIOTECHNOLÓGIAI
INTÉZET



7. gyakorlat: Immunszerológia 1. precipitáció, agglutináció

Az immunológia alapjai

PTE-KK, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet

Pécs

A szerológia fogalma

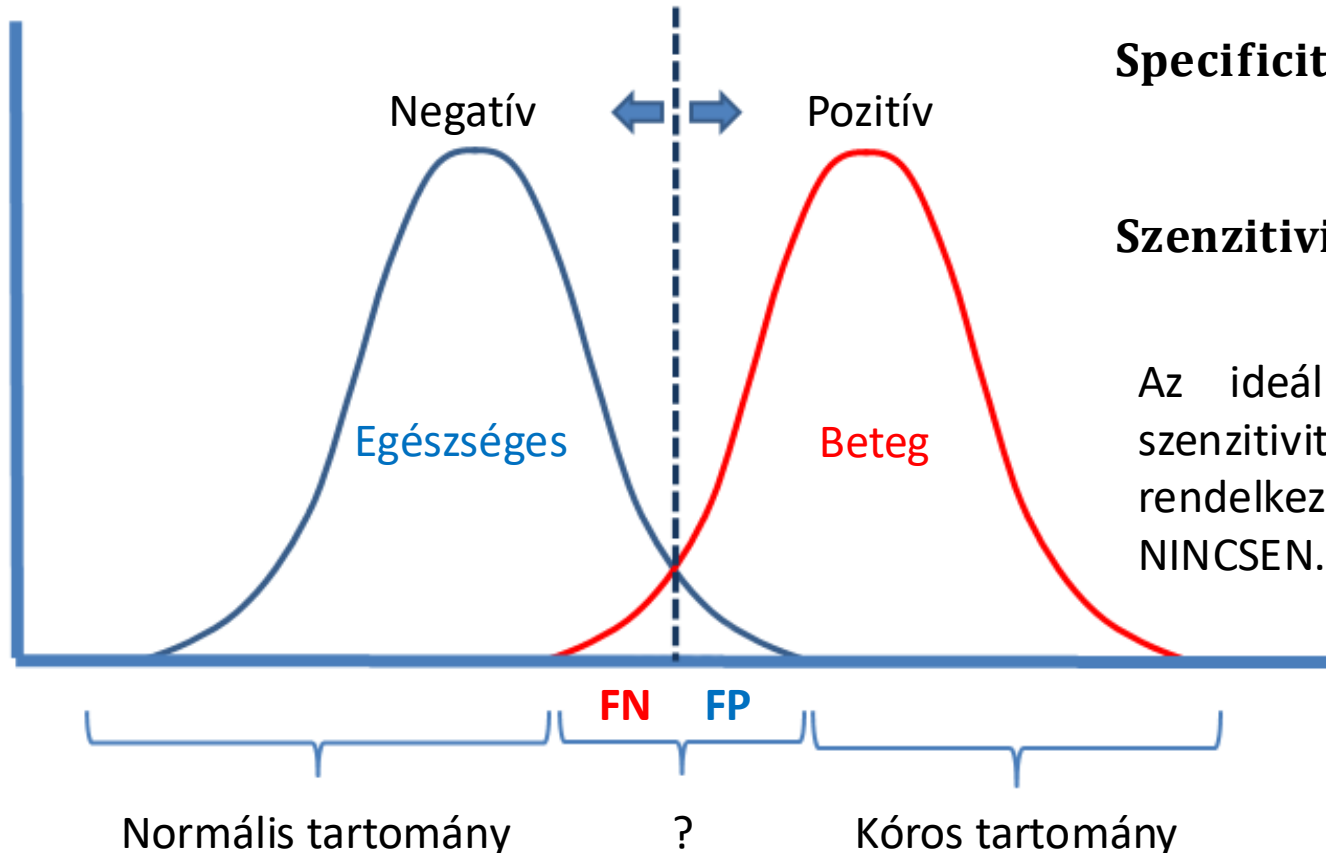
- A **vérszérum** és más testnedvek laboratóriumi vizsgálata, a gyakorlatban elsősorban az azokban található **antitestek** kimutatását értik alatta.
- Emlékeztek?
 - **Vérplazma**: alvadásgátolt vér felülúszója
 - **Vérszérum**: alvadt vér felülúszója
- Ezek is **antigén-antitest reakción** alapulnak (mindkettő kimutatható).
- Milyen módszerek tartoznak ide?
 - **Precipitáción** alapulók
 - **Agglutináción** alapulók
 - **Immunoassay vizsgálatok** (ELISA, ELISPOT, radioimmunoassay, stb., lásd jövő héten)
 - **Immunoblot technikák** (Western blot, Dot blot, lásd jövő héten)
 - **Indirekt immunfluoreszcens mikroszkópia**
- Főbb klinikai felhasználás:
 - **Fertőző betegségek** diagnosztikája (pl. a kórokozók ellen termelt antitestek kimutatása)
 - **Autoimmun betegségek** diagnosztikája (kóros autoantitestek kimutatása)
 - **Immunhiányos állapotok** diagnosztikája (antitestek szintjeinek mérése)
 - **Vércsoport meghatározás**

Specificitás, szenzitivitás

FN = Fals negatív

FP = Fals pozitív

Határérték



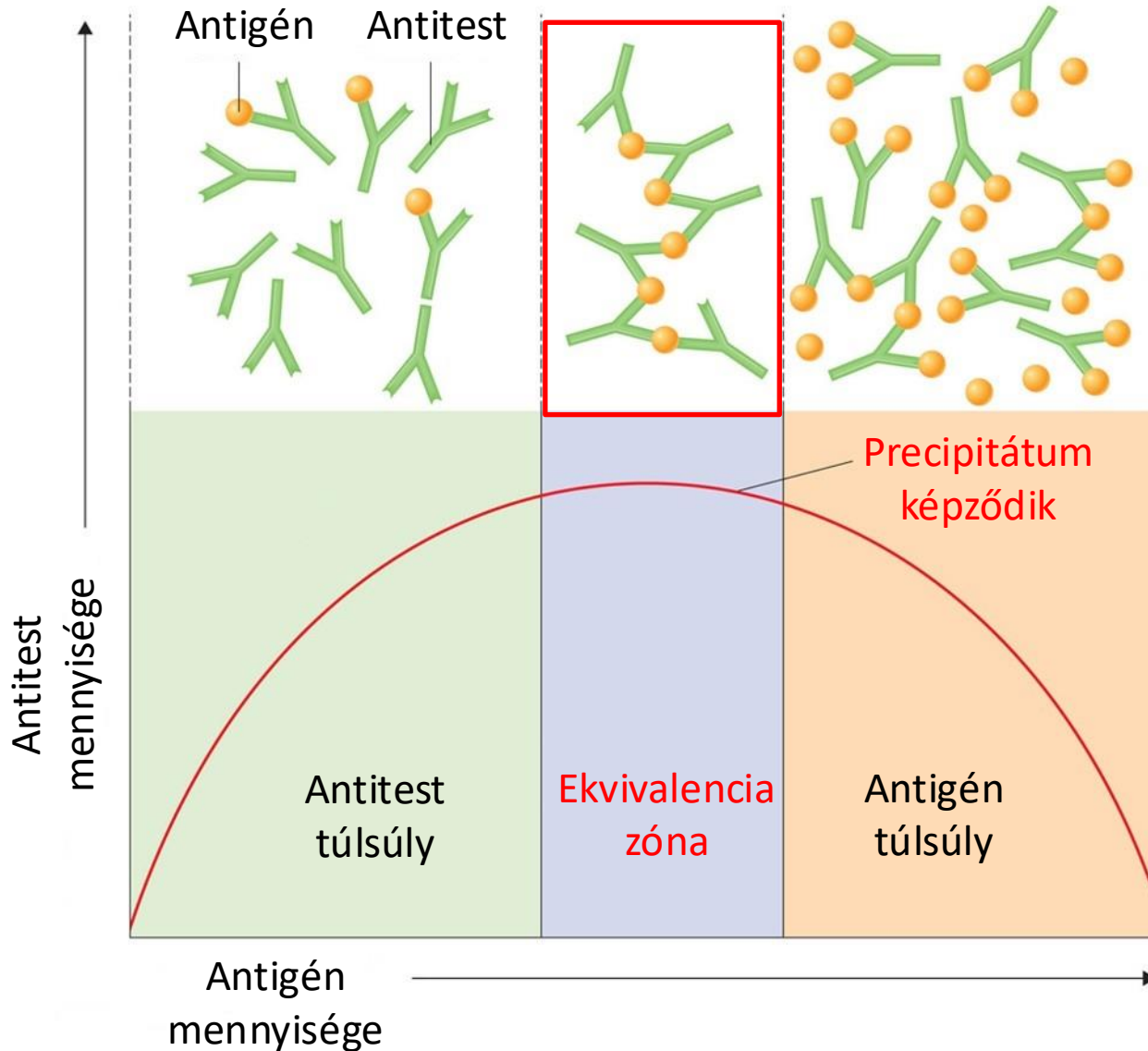
Fogalmak:^[1.]

$$\text{Specificitás} = \frac{\text{Valódi negatív}}{\text{Összes negatív}}$$

$$\text{Szenzitivitás} = \frac{\text{Valódi pozitív}}{\text{Összes pozitív}}$$

Az ideális vizsgálat 100%-os szenzitivitással és specificitással rendelkezik, de ilyen vizsgálat NINCSEN.

Precipitáció



Ha az oldatban lévő antigén mellett megfelelő arányban van jelen az azt felismerő antitest is, akkor nagyobb fehérje komplexeket hoznak létre.



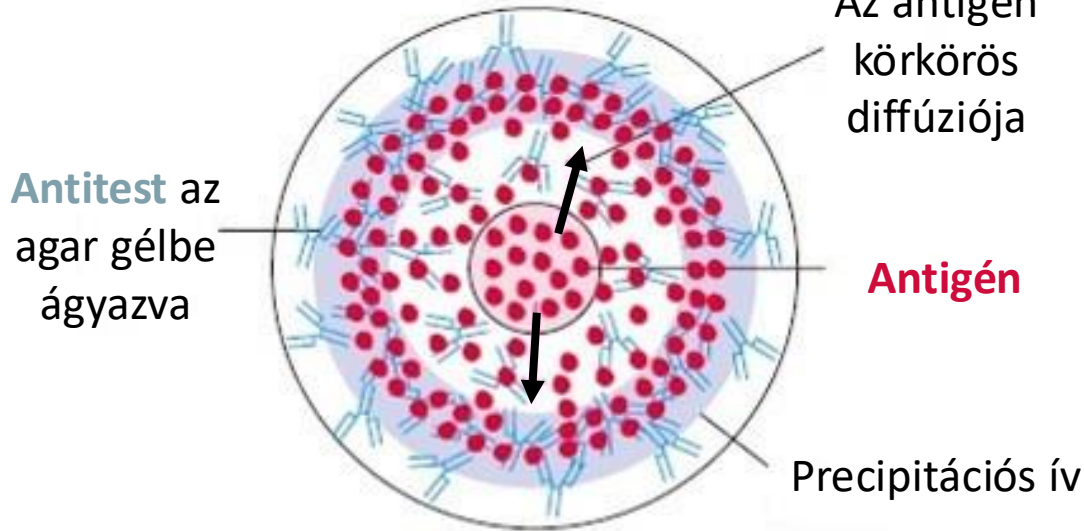
A nagyobb komplexeknek csökken az oldékonysága és kicsapódnak (precipitáció).

Ezen alapul:

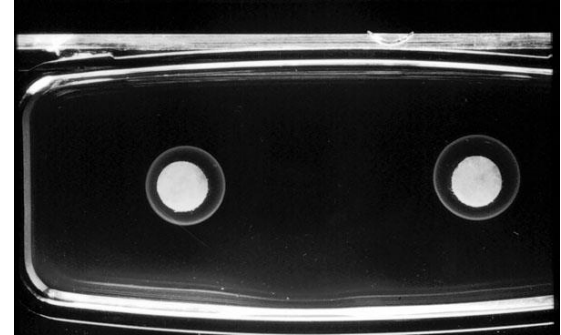
- Immundiffúzió
- Immunelektroforézis

Immundiffúzió I.

Radiális immundiffúzió

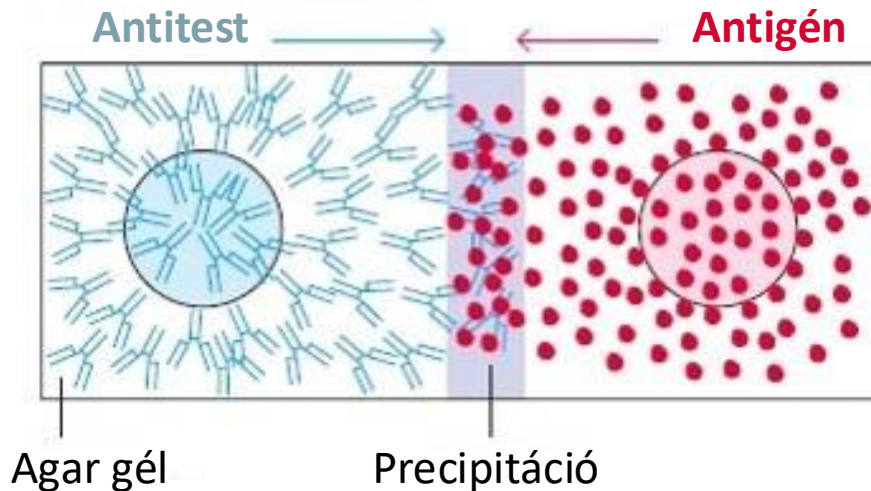


Mancini-féle^[2.] radiális immundiffúzió:



Egyszerűen kivitelezhető, de ma már **elavult** technikák.

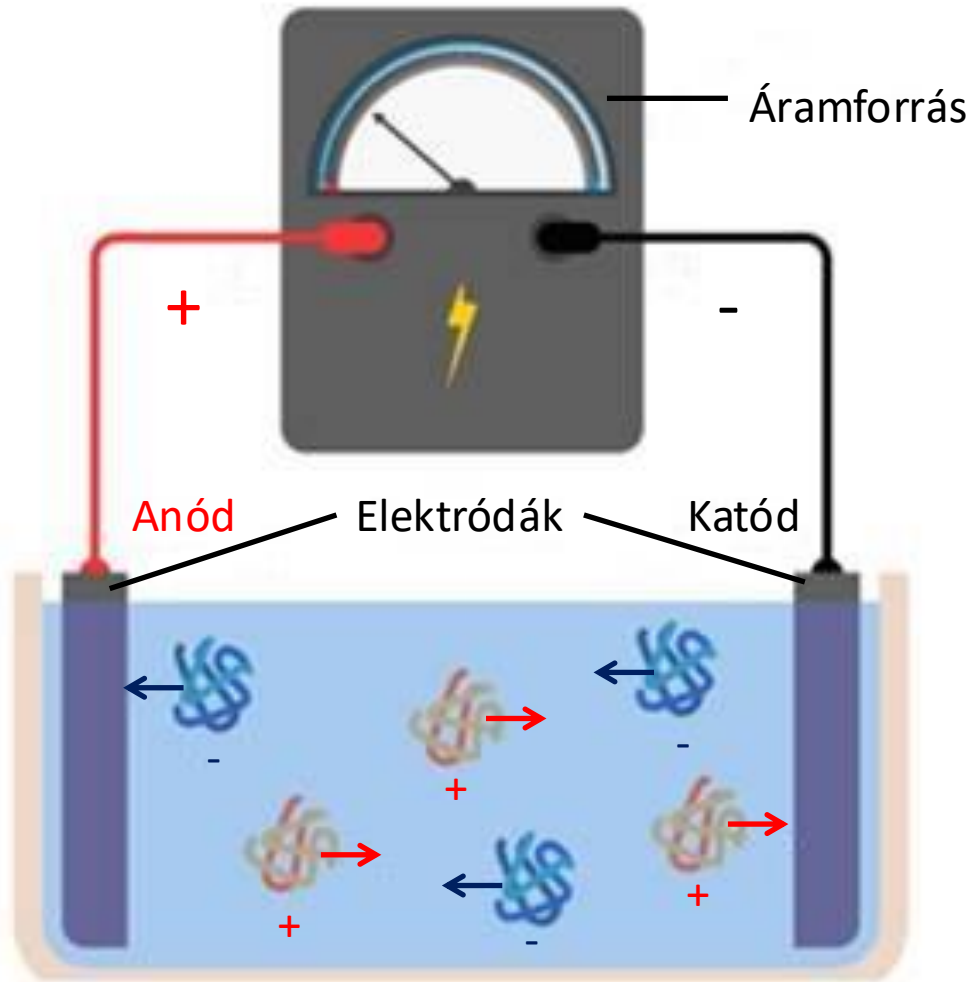
Kettős immundiffúzió



Ouchterlony-féle^[3.] kettős immundiffúzió:



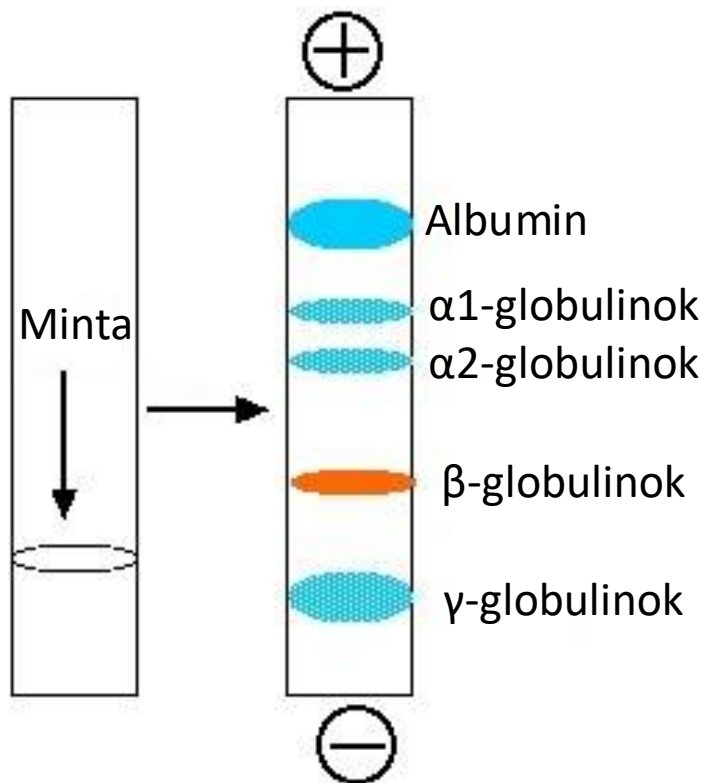
Fehérje elektroforézis



- Az elektromos töltéssel bíró molekulák, köztük a fehérjék is, elektromos erőter hatására a töltésükkel ellentétes pólus irányába vándorolnak.
- A vándorlási sebességük függ:
 - A közeg ellenállásától (standardizálható)
 - Az alkalmazott feszültségtől (standardizálható)
 - A **fehérjék méretétől** és **töltésétől** (utóbbi pH-függő)
- Az eltérő sebességgel futó fehérjék így fizikailag **elválaszthatók**.
- A közeg lehet:
 - Szilárd (pl. papír, nitrocellulóz)
 - Fél-folyékony (pl. agaróz vagy poliakrilamid gél)
 - Folyékony

Szérum protein elektroforézis

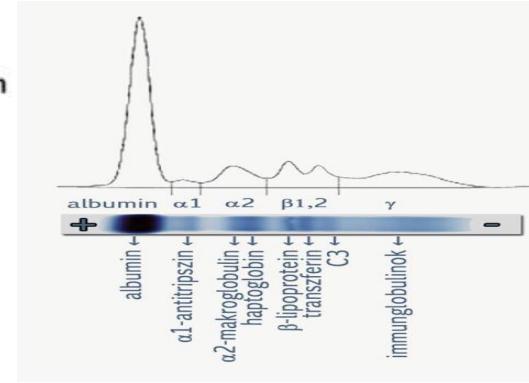
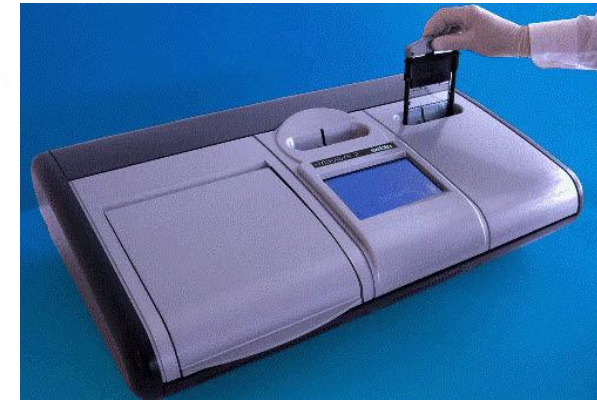
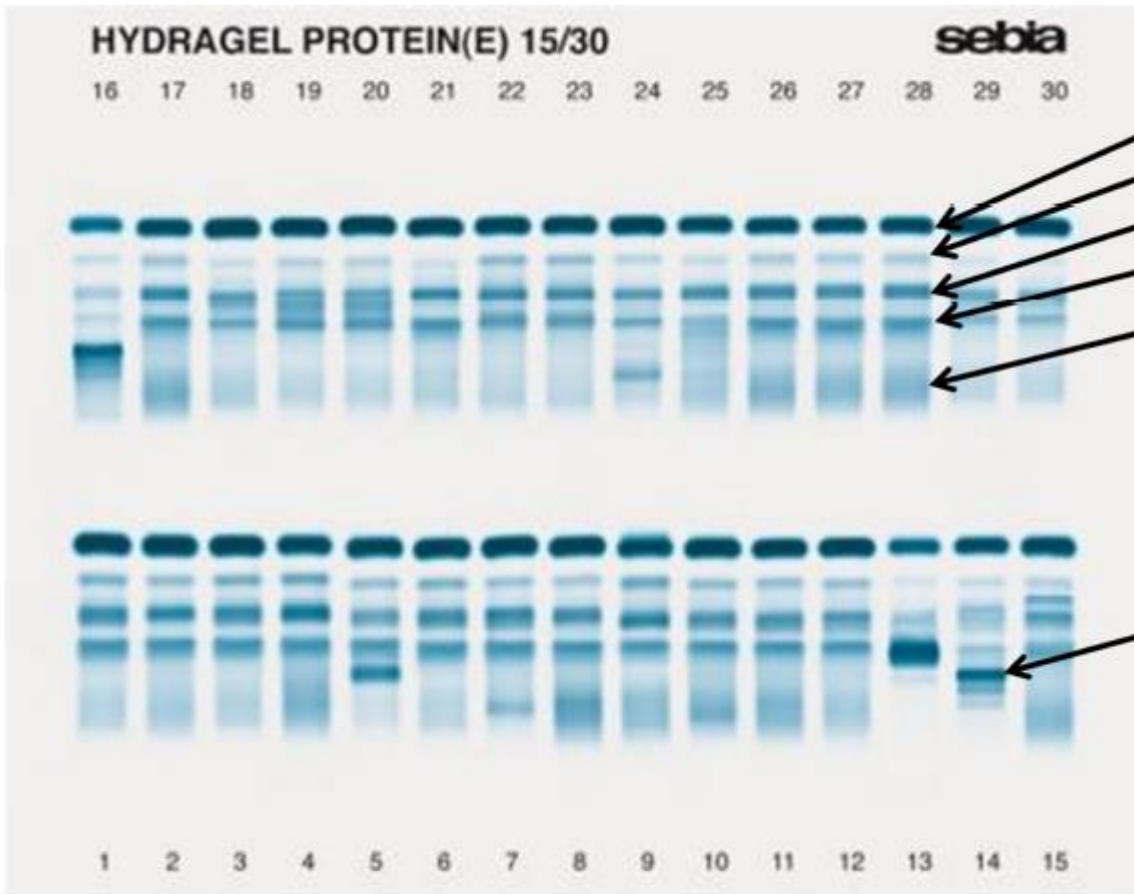
- A vészérumot enyhén alkalikus közegben futtatják, ilyen körülmények között a szérum fehérjék többsége a pozitív elektróda felé mozdul el, láthatóvá pedig nem-specifikus fehérje festékekkel tehető.^[4.]



Arne Tiselius

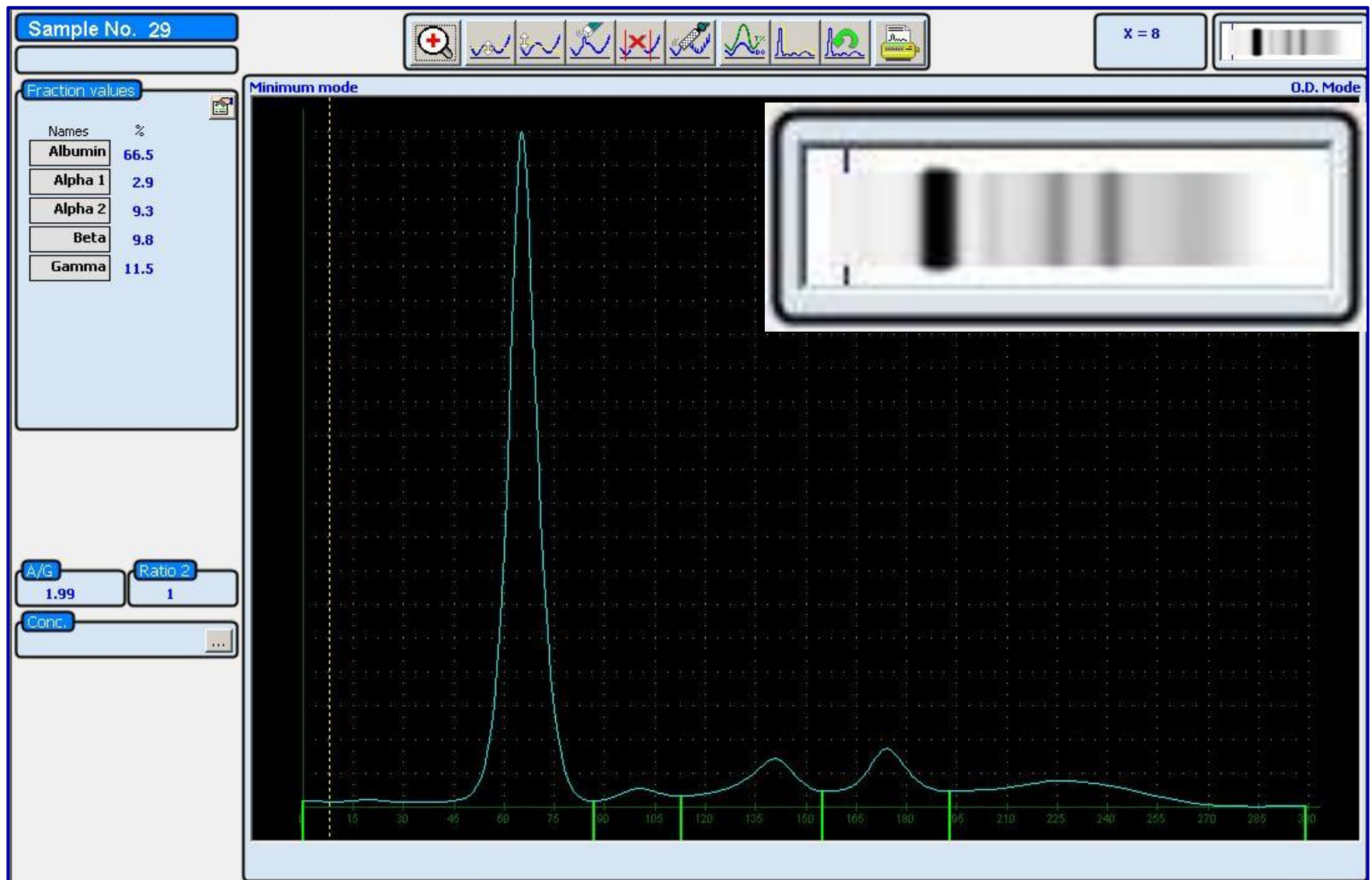
1948-as Kémiai Nobel-díj:
„Az elektroforézis és az adszorpciós
analízis terén végzett kutatásaiért,
különös tekintettel a szérum fehérjék
komplex természetét feltáró
eredményeiért.”^[5.]

Elektroforézis kiértékelés



A fehérjék az ábrán lentről (negatív pólus – feltöltés helye) felfelé (pozitív pólus felé) vándorolnak, legtávolabb az albumin vándorolt (prealbumin nem látható az ábrán)

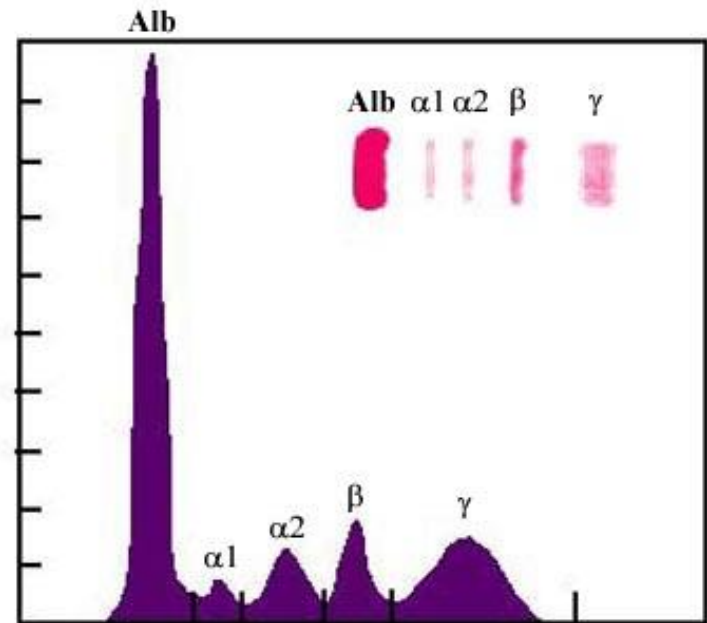
Elektroforézis denzitometrálas



Szérum elektroforézis analízise

Néhány példa az egyes frakciókban futó fehérjékre:^[6.]

- Legnagyobb frakció az **albumin**. ↓
- α 1-globulinok:
 - **α 1-antitripszin** ↑
 - **Szérum amiloid A** ↑
 - **Retinol-kötő fehérje** ↓
 - **Transzkortin** ↓
- α 2-globulinok:
 - **Cöruoplazmin** ↑
 - **Angiotenzinogén**
 - **Haptoglobin** ↑
- β -globulinok:
 - **β 2-mikroglobulin** ↑
 - **Transzferrin** ↓
 - **Plazminogén**
- γ -globulinok:
 - **Immunglobulinok**



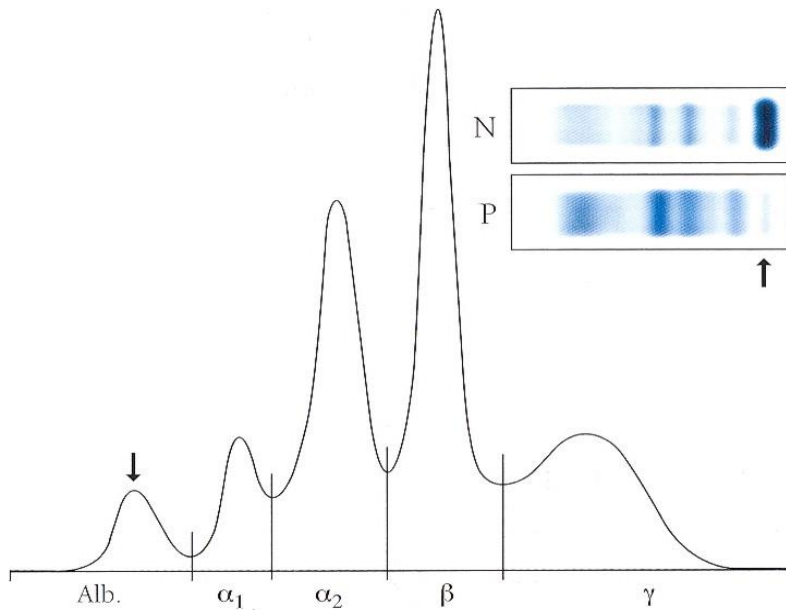
Szérum elektroforézis normális mintázata és az abból készült denzitometriás diagram.

Gyulladásos citokinek hatására (pl. $\text{TNF}\alpha$, IL-1, IL-6) az **akut fázis reakció** során a termelésük:

- **Növekszik** (pozitív akut fázis fehérjék, legfőbb képviselőjük a **CRP**, ami a β - és a γ -frakció között fut^[7.])
- **Csökken**

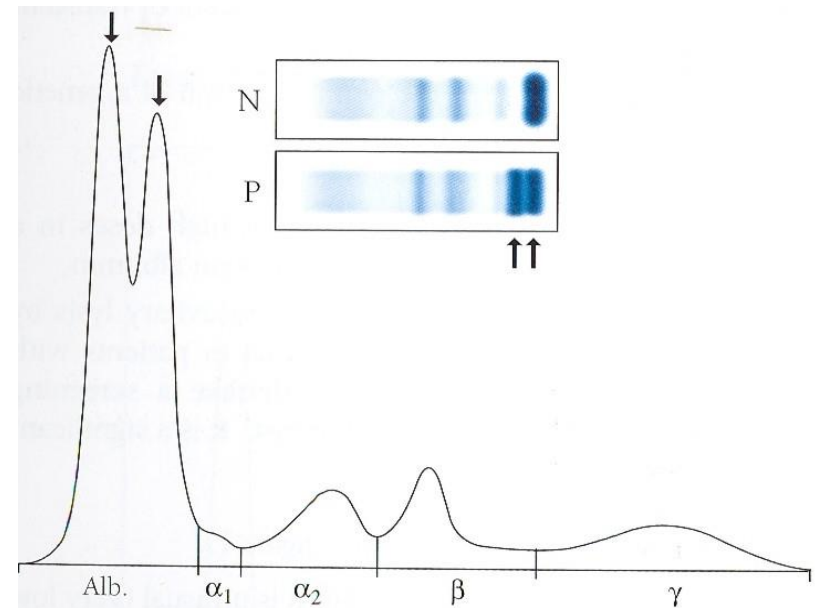
Példák kóros szérum elektroforézisre I.

ABNORMÁLIS ALBUMIN MENNYISÉGEK



ANALBUMINÉMIA = albumin teljes hiánya

Örökletes betegség, a szervezet más plazma proteinek termelését fokozza (lipoproteinek, gamma-globulinok), kompenzálja az albumin hiányát



BISALBUMINÉMIA = 2 albumin csúcs

Ritka, örökletes, benignus kórkép, bár krónikus vesebetegségben, illetve Alzheimer kórban szenvedőkben gyakrabban mutatják ki

Példák kóros szérum elektroforézisre III.

BÉTA FRAKCIÓ FEHÉRJÉINEK ELTÉRÉSEI ↑↓

I. KOMPLEMENT FEHÉRJÉK

A C3, C4 és C5 komplement - hiányuk vagy mutációjuk gyengébb immunválaszhoz vezet, illetve alacsony szintjük kapcsolatba hozható szisztémás lupus eritematózussal (SLE) ~ betegség aktivitás

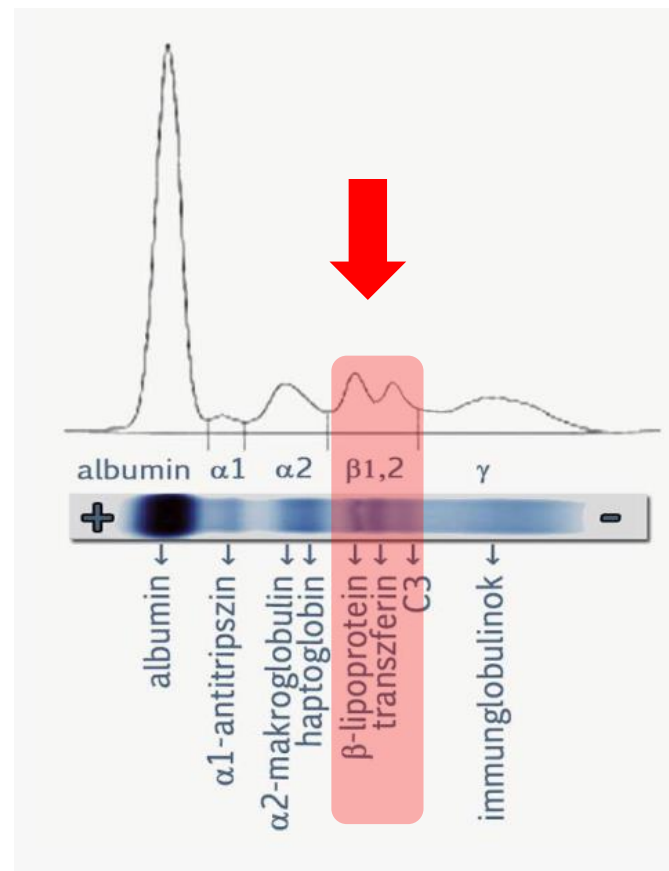
II. BÉTA-2-MIKROGLOBULIN - AZ MHC I KOMPLEX RÉSZÉ

- Szintje megemelkedhet veseelégtelenségben, gyulladásban, illetve limfómában és myeloma multiplexben.
- Mivel átjut a glomerulusokon, de a tubulusok kiszűrik a filtrátumból, a tubulus funkció felmérésére használható

III. TRANSZFERRIN

A vas szállításáért felelős fehérje

Gyulladás során csökken ↓ a mennyisége = **NEGATÍV** akut fázis fehérje!



Gamma frakció fehérjéi

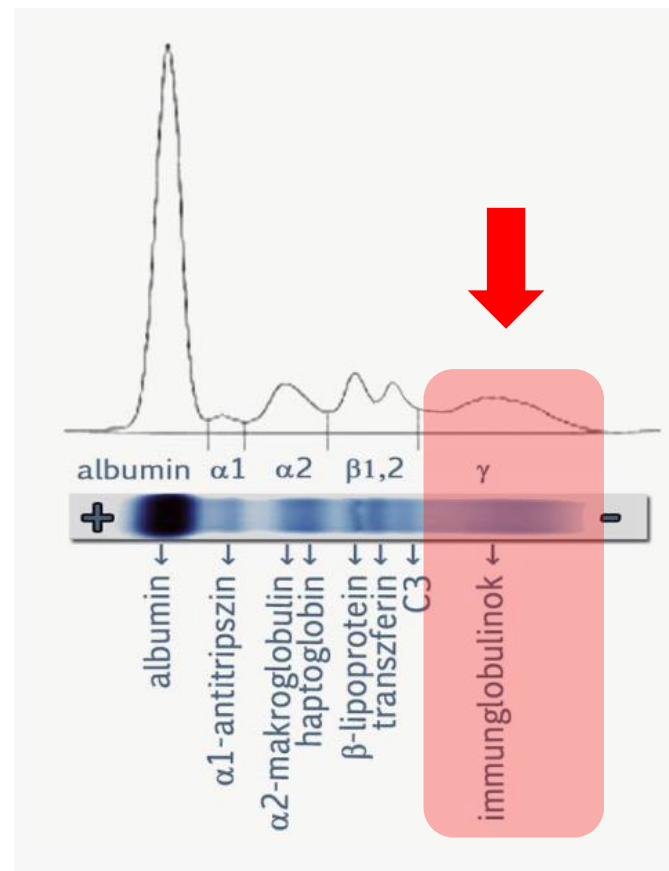
IMMUNGLOBULINOK:

A szérumban a második legnagyobb frakciója az albumin után.

- IgG (~15 g/l)
- IgA (~2-4 g/l)
- IgM (~1,5 g/l),
- IgD és IgE normál esetben mg/l-es nagyságrendben

Az Ig alcsoportjai a szérumban elválasztás nélkül, ezért az elsősorban az össz. Ig szint szemi-quantitatív meghatározására, illetve **PARAPROTEINÉMIÁK** kimutatására alkalmazható.

PARAPROTEINÉMIÁK: olyan kórállapotok gyűjtőneve, amelyekben a vérben **monoklonális immunglobulin (paraprotein vagy M-protein)** jelenik meg kóros mennyiségben.



Példák kóros szérumszintre IV.

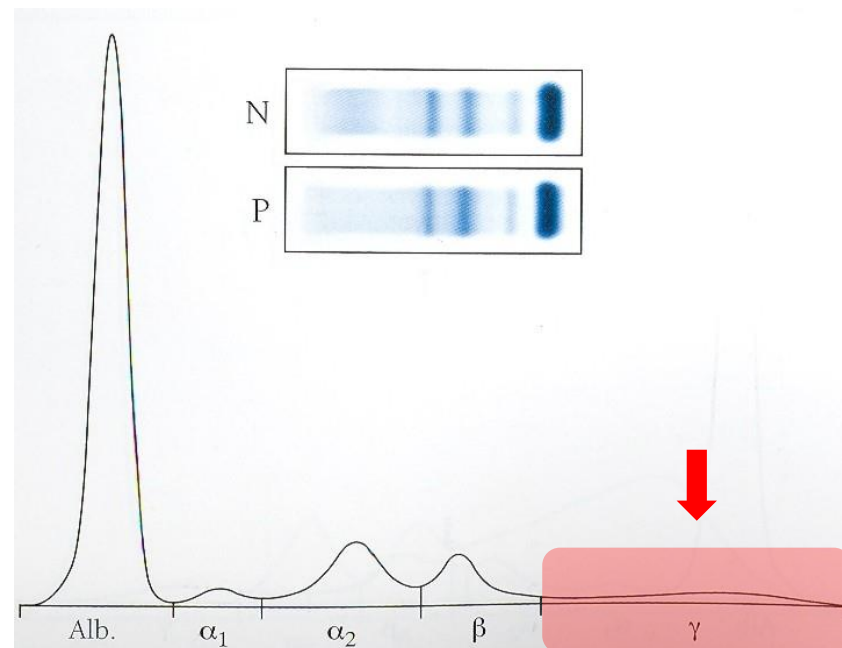
HIPOGAMMAGLOBULINÉMIA ↓

FIZIOLÓGIÁSAN is kialakul **FIATAL** életkorban

- ~ 3 hónapostól 3 éves életkorig
- Oka: gyermekben az anyai immunglobulinok kb. a 3-dik hónap végére elfogynak, a gyermek saját immunglobulin termelése pedig több időt vesz igénybe,
- ~ 2-3 éves korára éri el a szérumszint a „normális” koncentrációt.

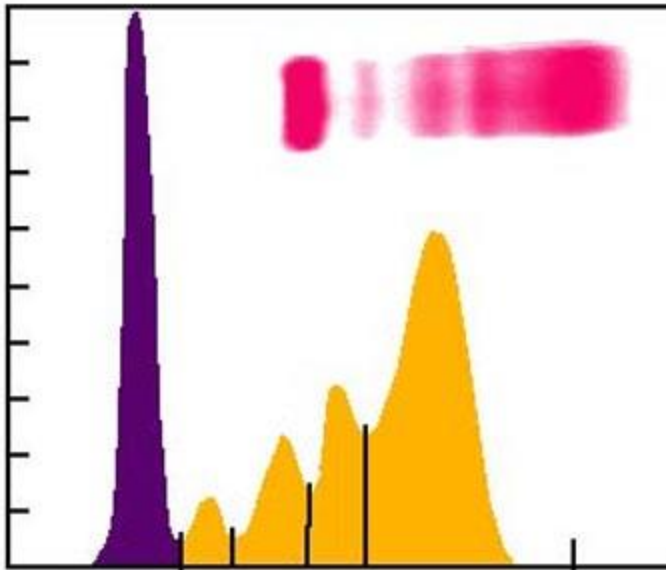
PATHOLÓGIÁS HIPOGAMMAGLOBULINÉMIA

- oka lehet örökletes (**leggyakoribb az IgA hiány**)
- Szerzett állapot, pl. CLL vagy Hodgkin kór
- Toxikózis, és súlyos fehérje-vesztő kórképekben (nefrózis) is megfigyelhető.



Példák kóros szérumszéklet elektrofórezisére VI.

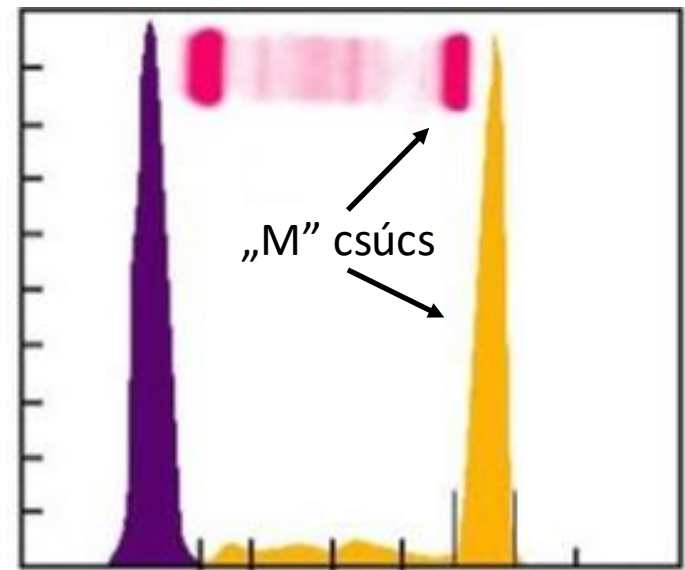
Poliklonális gammopathia



Több B-sejt klón által termelt immunoglobulin többlet, valamilyen **gyulladásos folyamat** áll mögötte:^[7.]

- Fertőzés
- Autoimmun betegség
- Daganat
- Májbetegség (pl. hepatitis, cirrhosis)

Monoklonális gammopathia

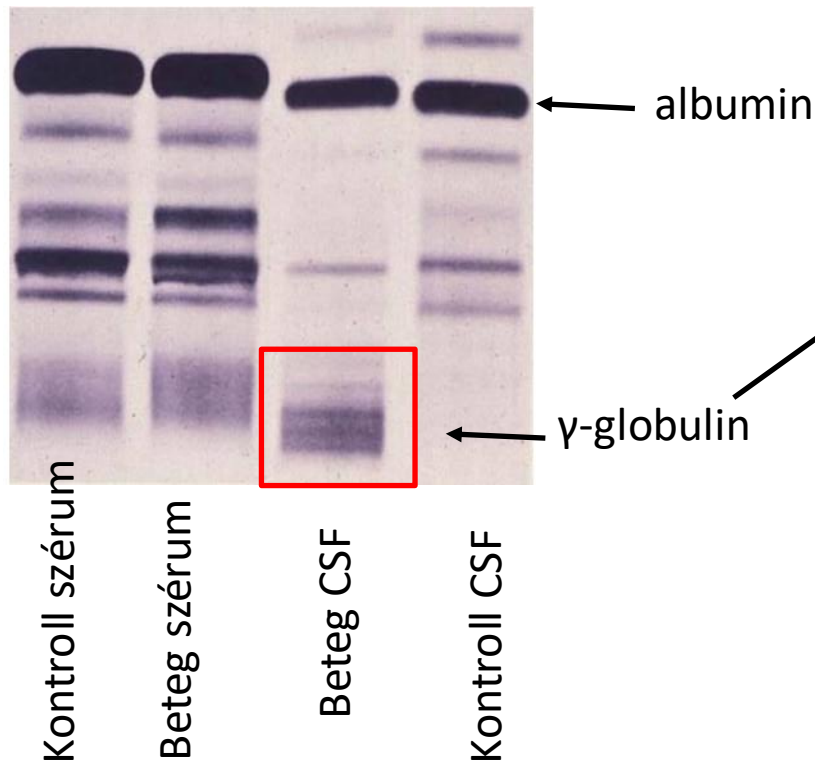


Egyetlen B-sejt klón által termelt immunoglobulin többlet, **plazmasejtes daganat** áll mögötte:^[7.]

- Myeloma multiplex
- Waldenström macroglobulinaemia
- MGUS (Monoclonal gammopathy of undetermined significance)

Egyéb testfolyadékok elektroforézise

Liquor cerebrospinalis (CSF)



A beteg esetében több, különböző csík látszik a liquor gamma-globulin frakcióban, ami azonban eltér a szérumában található mintázattól.

Kóros immunglobulin termelődik helyileg a központi idegrendszerben. (oligoklonális gammopathia, pl. sclerosis multiplex esetén^[9.])

Háttér információ: Az **immunglobulinok** normálisan **nem jutnak át a vér-agy gáton.**^[10.]

Vizelet elektroforézis:

Myeloma multiplex gyanúja esetén, szérum elektroforézissel egy időben végzik, a vesében kórosan filtrálódó immunglobulin könnyű láncot (Bence Jones fehérje^[11.]) keresik.

KÓROS FEHÉRJE-ELEKTROFORÉZIS EREDMÉNY

→immunfixáció következik

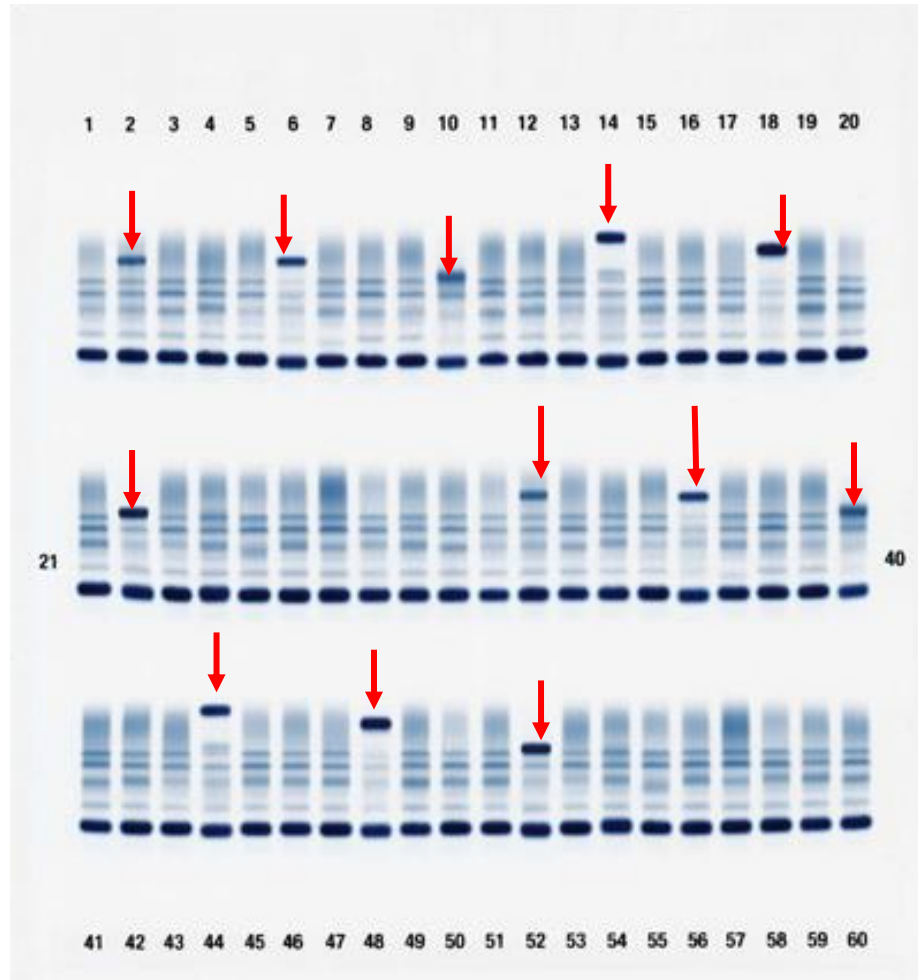
PARAPROTEIN

= M-csúcs

= M-protein

Monoklonális

immunglobulin, amely
egyetlen plazmasejt-
klónból származik.



Általában éles, jól
körülhatárolt, keskeny
sávként
(monoklonális band)
vagy meredek, tűszerű
csúcsként
(M-spike) jelenik meg.

Kóros szérumfehérje-elektroforézis (agaróz gél) eredmény esetén a monoklonális komponens megerősítésére és tipizálására immunfixációs vizsgálat történik →

Immunfixáció

Ha van extrafrakció (paraprotein) a szérumban !!!

Immunglobulin nehéz és könnyűlánc azonosítás = TIPIZÁLÁS

Menete:

1. Fehérjék elválasztása (elektroforézise) agaróz gélen
2. Immunprecipitáció (fixáció) – anti-human immunglobulinok

1 beteg: 6 anti-szérumban sáv

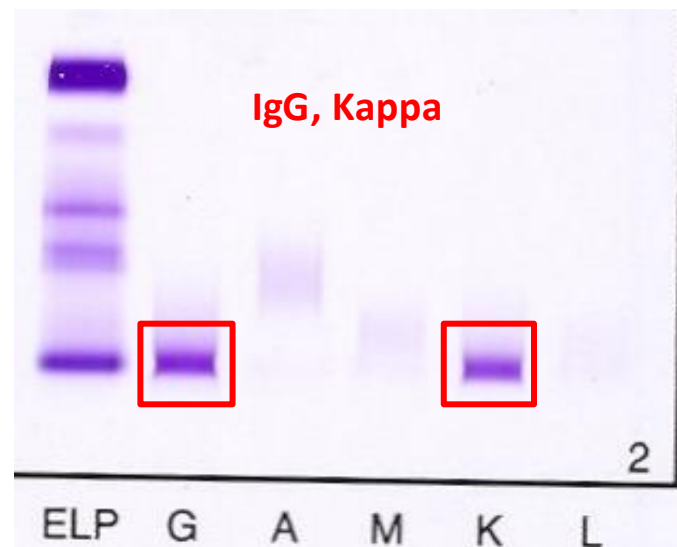
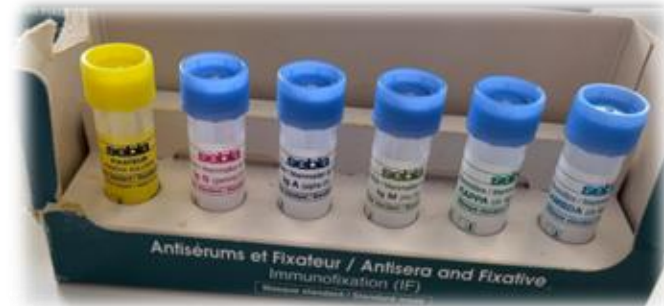
ref –elfo sáv, IgG, IgA, IgM, K és L sáv

minden nehéz- és könnyűláncot más sávban vizsgálunk!

3. Értékelés: vizuálisan

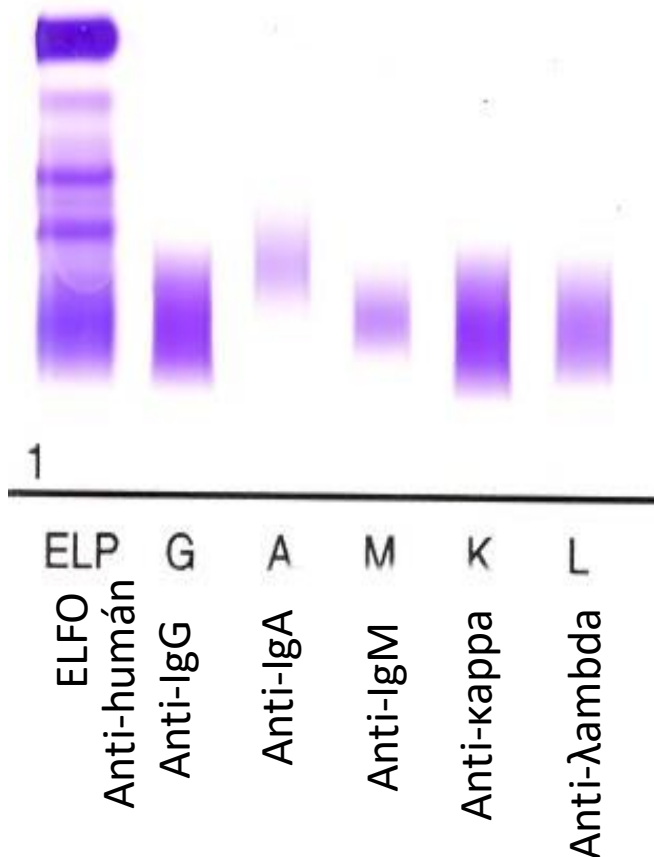
M-KOMPONENS JELENLÉTE:

**ÉLES, HOMOGEN FESZTŐDÉSI CSÍK EGY NEHÉZ ÉS
EGY KÖNNYŰLÁNCBAN, AZONOS MAGASSÁGBAN**



Immunfixáció

Poliklonális immunglobulinok



1. Több párhuzamos szérum **elektroforézist** végeznek ugyanabból a betegmintából.^[13.]
2. Ezt követően az egyes megfuttatott géleken **antitestekkel** mutatnak ki meghatározott fehérjéket.
3. A hozzáadott **antitest** az **antigénnel precipitátumot** képez, mely vagy szabad szemmel, vagy valamilyen **festék** hozzáadásával **látható**.
4. Az antigének az esetek többségében maguk a **humán immunglobulinok**

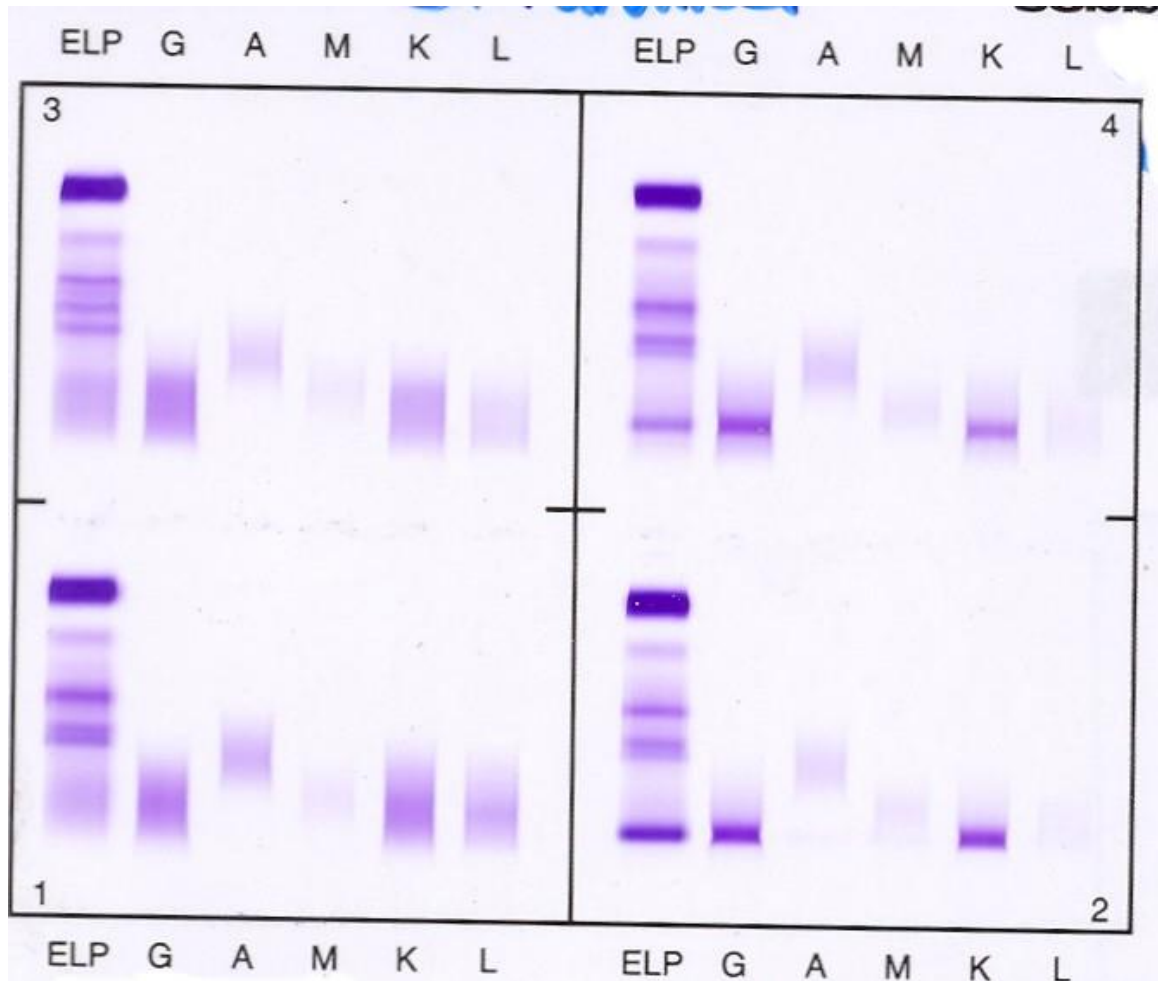
FELHASZNÁLÁS

Általában plazmasejtes daganatok diagnosztikája a rájuk jellemző kóros monoklonális antitestek („paraprotein”) kimutatásán keresztül a szérumban.^[14.]

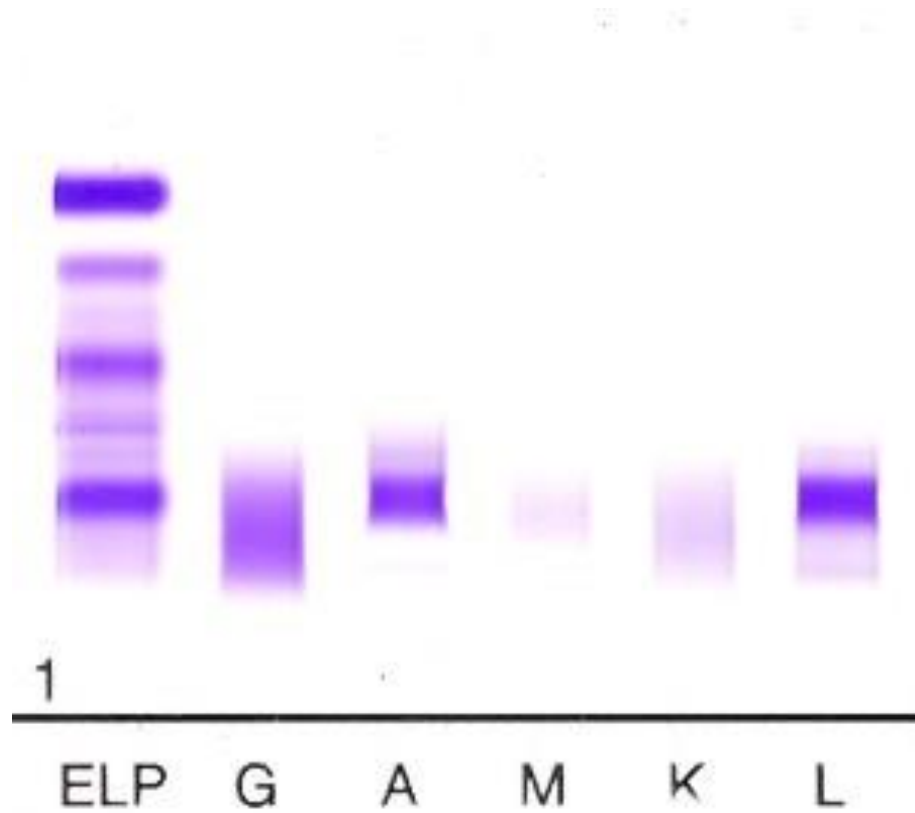
Immundefixáció

Poliklonális immunglobulinok

Monoklonális immunglobulin



IgA típusú monoclonális gammopathia



IgM típusú monoclonális gammopathia

ELP G A M K L

3



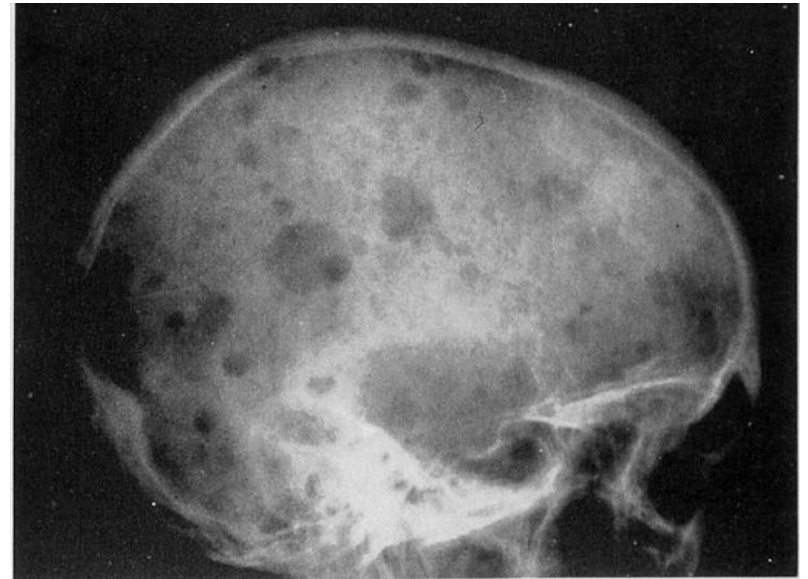
1

ELP G A M K L



M-protein az immunfixáció

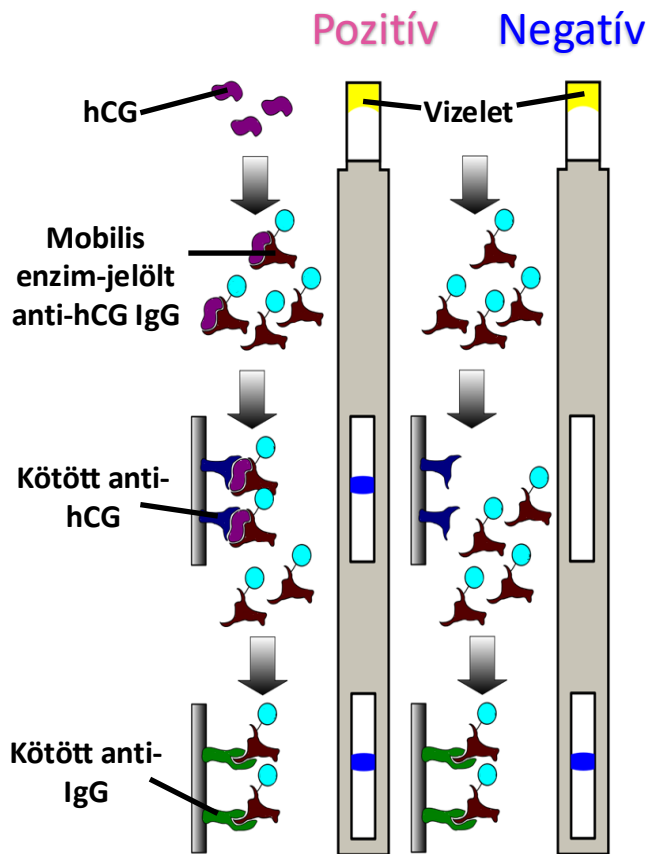
1. Myeloma multiplex IgG paraproteinnel
2. Waldenström macroglobulinaemia IgM paraproteinnel
3. Myeloma multiplex IgA paraproteinnel



Körülírt csontiányos gócok a koponyáról készült röntgenfelvételen myeloma multiplexben.^[15.]

OTTHONI TERHESSÉGI TESZT

LATERÁLIS ÁRAMLÁSÚ (LATERAL FLOW) IMMUNO-ASSAY



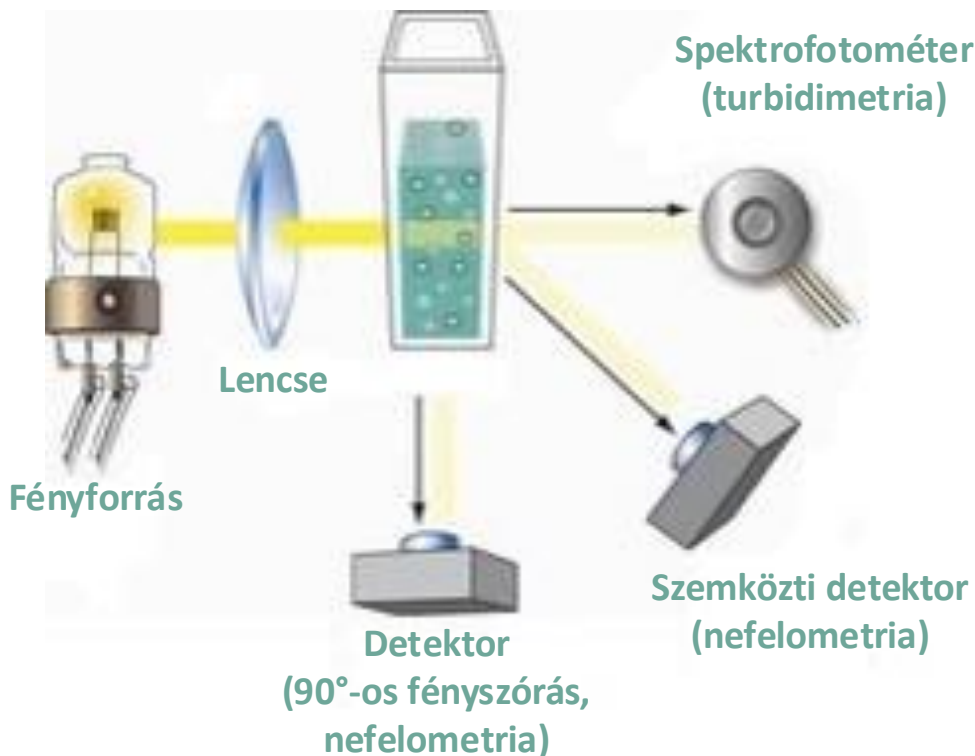
- Gyors immunkromatográfiás [24] (**laterális flow**) vizsgálat, amely a **humán chorion gonadotropin (hCG)** hormont mutatja ki a vizeletből
- **Monoklonális anti-hCG antitestek** kötődnek a hormonhoz, ha az jelen van a mintában
- **AZ ANTIGÉN-ANTITEST KOMPLEX KAPILLÁRIS ÁRAMLÁSSAL HALAD VÉGIG A MEMBRÁNCSÍKON**
- A komplexek a **tesztvonalnál rögzülnek**, ahol **látható színes csík** jelenik meg
- **Gyors, kvalitatív terhességkimutatás**, az eredmény néhány percen belül megjelenik

Csík akkor jön létre, ha megkötődik az enzim-jelölt antitest.
Ha nincs hCG a vizeletben, akkor ez csak a kontroll esetében következik be és egy csík látható.



Nefelometria, turbidimetria

Szérum fehérjék menyiségi meghatározása



Az **oldatban (szérum)** található fehérjék a hozzáadott specifikus ellenanyaggal immunkomplexet képeznek. A képződött **makromolekulák (immunkomplexek)** a molekulatömegükkel arányosan **szórják a fényt**.



Nefelométer segítségével a **fényszórás alapján** azonosítható a vizsgált fehérje turbidimetria esetén pedig a küvettán átjutott **fény intenzitásának csökkenését** mérik.^[18.]



FELHASZNÁLÁSUK

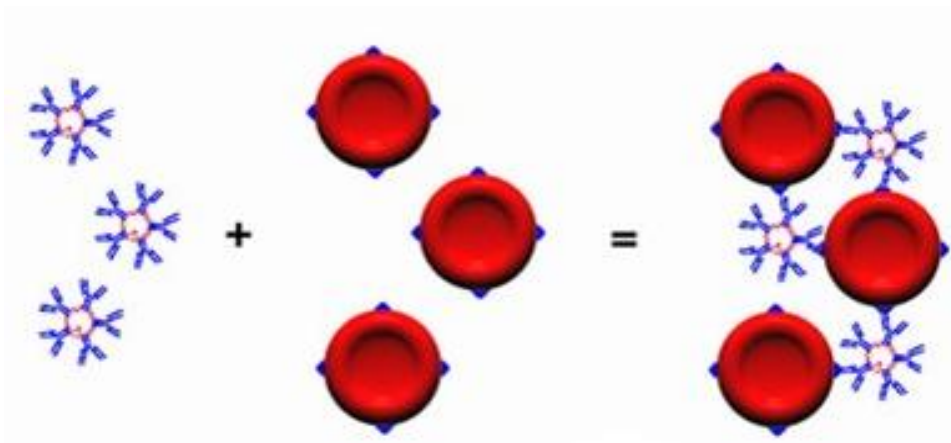
- Immunglobulin alosztályok mérése, pl. Össz iga, igm, igg szintek meghatározása
- Könnyű lánc szint mérése (pl. Myeloma multiplexben)
- **Akut fázis fehérjék mérése**

Akut fázis fehérjék

POZITÍV AKUT FÁZIS FEHÉRJÉK	NEGATÍV AKUT FÁZIS FEHÉRJÉK
Gyulladásben emelkedik ↑	Gyulladásben csökken ↓
Citokinek (IL-6)	Albumin
CRP (β)	Prealbumin
Procalcitonin (PCT), Preszepszin	Transzferrin (β)
α 1-antitripszin	
Haptoglobin (α 2)	
Cöruoplazmin (α 2)	
Fibrinogén (β)	
Komplement faktorok (β)	
SAA (szérum amyloid A)	
Ferritin	

Agglutináció

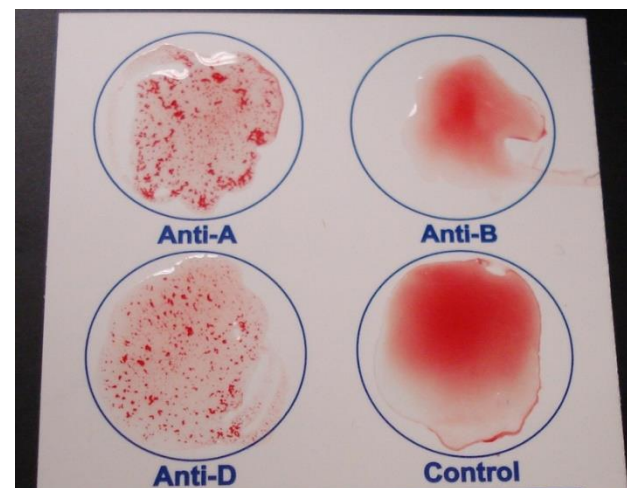
- Ha az antitestek **nagyobb partikulumokat** (pl. sejteket, latex gyöngyöket) kötnek keresztbe, azok **összecsapzódnak**. = **agglutináció** (ha vörösvérsejtek csapzódnak össze, akkor **hemagglutináció**)
- Az agglutináció az **antitestek egyik élettani funkciója** is, a kórokozók agglutinációja hátráltatja a fertőzések terjedését.^[19.]
- Lehet **direkt** vagy **indirekt**, illetve **aktív** vagy **passzív**.
- Számos laboratóriumi teszt agglutináción alapul, melyek szabad szemmel is láthatók.



Anti-„A” IgM

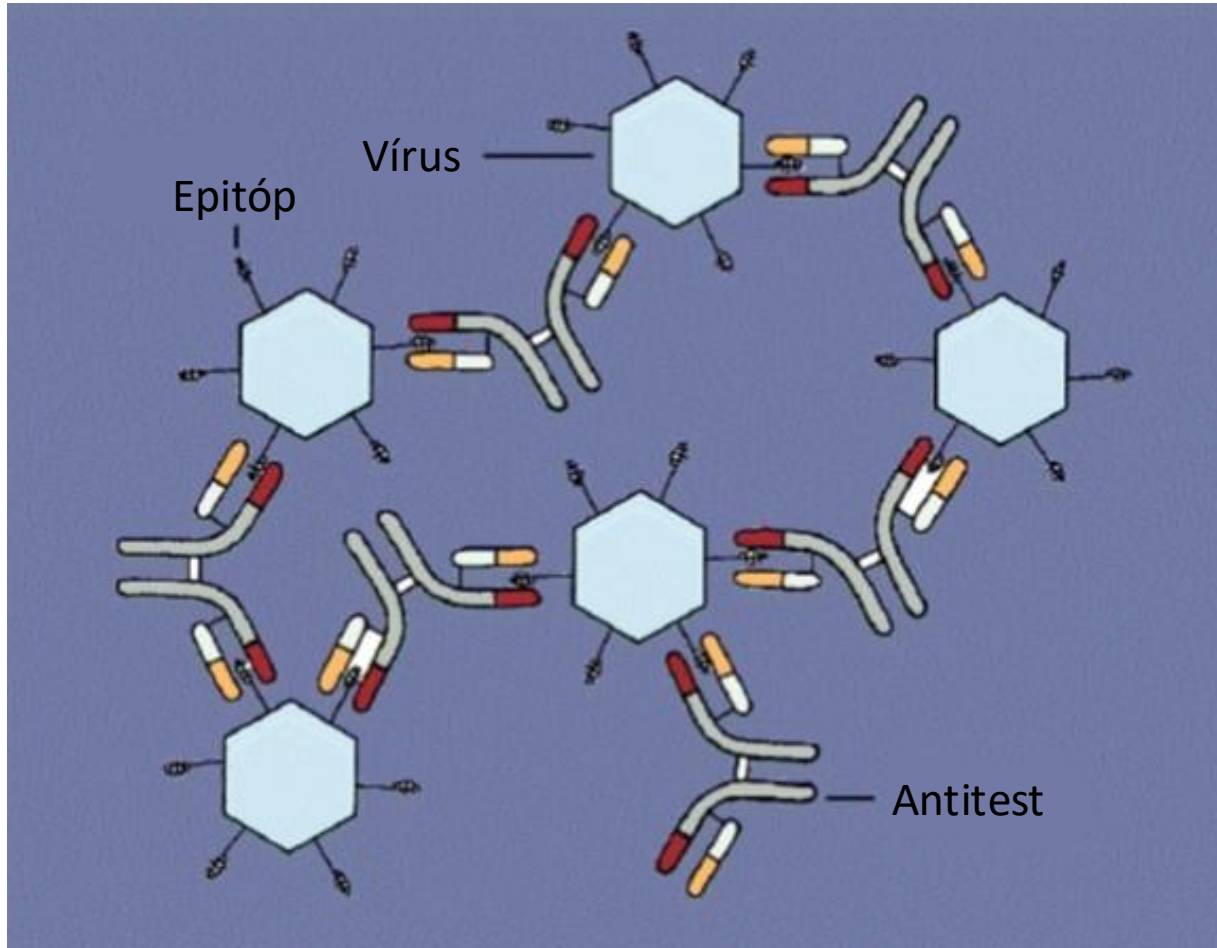
Vörösvérsejt
„A” antigénnel

Hemagglutináció



Vércsoport meghatározás:
A, Rh(D) pozitív

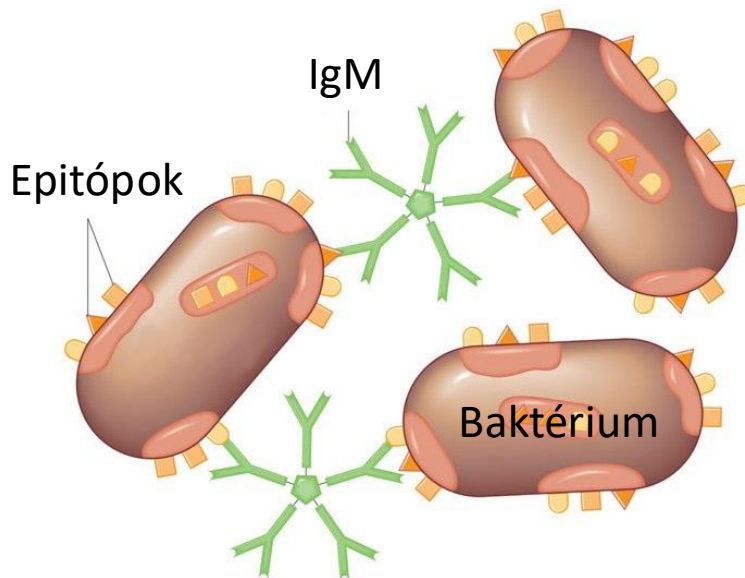
Az agglutináció élettani szerepe



Az agglutináció az antitestek **in vivo** funkciója is, a kórokozók agglutinációja hátráltatja a fertőzések terjedését.[19.]

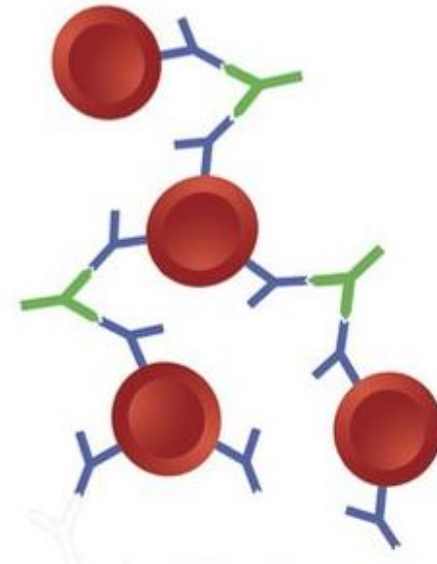
Direkt vagy indirekt

Direkt agglutináció:



- Ugyanaz az antitest képes keresztbe kötni a partikulumokat.
- Az **IgM** izotípusú antitestekre jellemző.

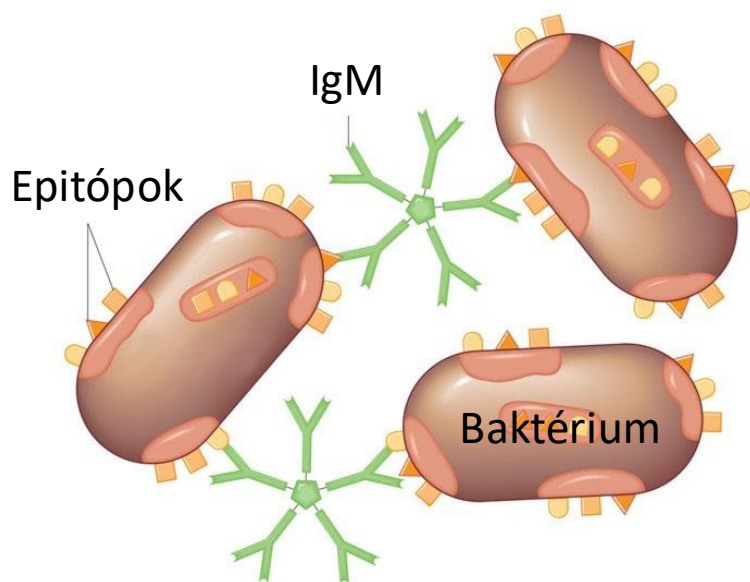
Indirekt agglutináció:



- Egy másodlagos antitest köti keresztbe a részecskéket.

Aktív vagy passzív

Aktív agglutináció:



- A sejt a **saját**, sejtfelszíni **antigénjével** vesz részt a reakcióban.
- Példa:
 - Vércsoport meghatározás
 - Bakteriális sejtfelszíni antigén kimutatása

Passzív agglutináció:

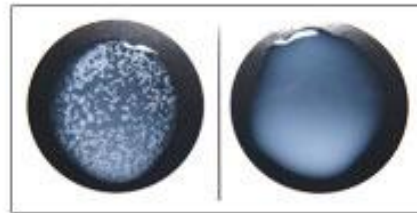


- A reakcióban résztvevő hordozó részecskére **mesterségesen van rákötve az antigén.**
- Példa:
 - Latex agglutinációs tesztek (lásd következő diákon)

Az agglutináció orvosi jelentősége

- Az antitestek egyik élettani funkciója, a kórokozók elleni védelem része.
- Bizonyos kórállapotokban (pl. autoimmun haemolyticus anaemia, AIHA) *in vivo* is létrejöhet hemagglutináció.
- Diagnosztikai tesztek:
 - **Latex agglutinációs tesztek:**
 - **Autoimmun kórképek** (autoantitestek kimutatása)
 - **Fertőzések** (kórokozó antigénjét vagy az ellene termelt antitestet mutatják ki)
 - Egyéb fehérjék (pl. CRP, hCG, D-dimer) kimutatása
 - **Hemagglutinációs tesztek:**
 - **Vércsoport meghatározás**
 - **Coombs-teszt**
 - Hemagglutinációs assay
 - Hemagglutináció-gátláson alapuló vizsgálatok:
 - Vírus hemagglutininek azonosítása
 - Vírus hemagglutininek neutralizáló antitestek tesztelése

Latex agglutinációs teszt



Pozitív Negatív

Latex gyöngyök felszínére van kötve a reakcióban résztvevő antigén/antitest.



Ha a hozzáadott mintában jelen van a vizsgált antitest/antigén, akkor az a gyöngyök összezsugorodását idézi elő.

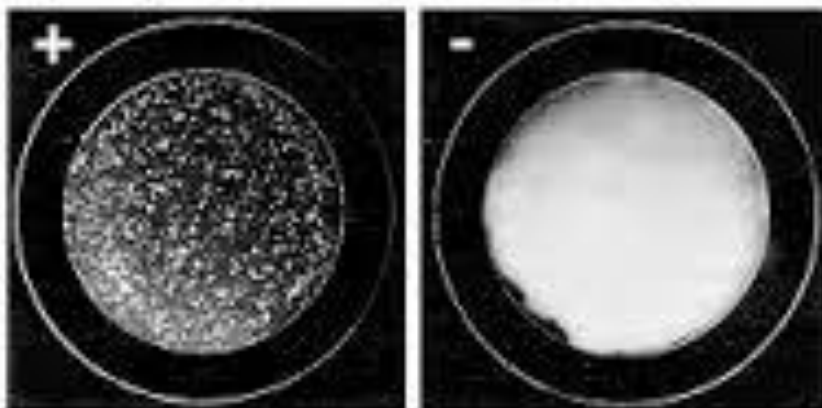
Felhasználás:

- **Autoimmun kórképek diagnosztikája**, pl.:
 - Rheumatoid arthritis (rheumatoid faktor, RF^[20.]), SLE (különböző autoantitestek)
- **Fertőző betegségek diagnosztikája**
 - Kórokozó elleni antitestek kimutatása (pl. anti-streptolizin O antitest, ASO/AST^[21.])
 - Bakteriális antigének kimutatása
- Egyéb fehérjék kimutatása, pl.:
 - **C-reaktív protein** (CRP, akut fázis fehérje^[22.]), D-dimer^[23.] (vérrögképződés jele lehet), **humán choriogonadotropin** (hCG, terhességben)

Agglutináció gyakorlat

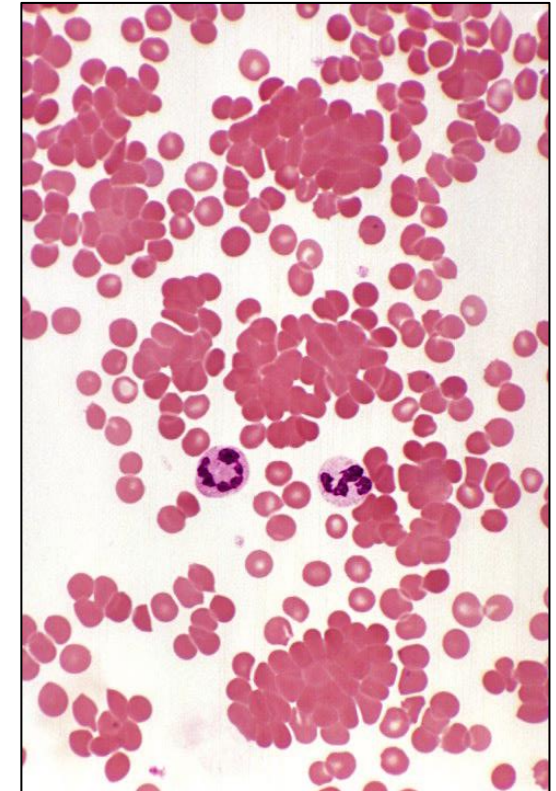
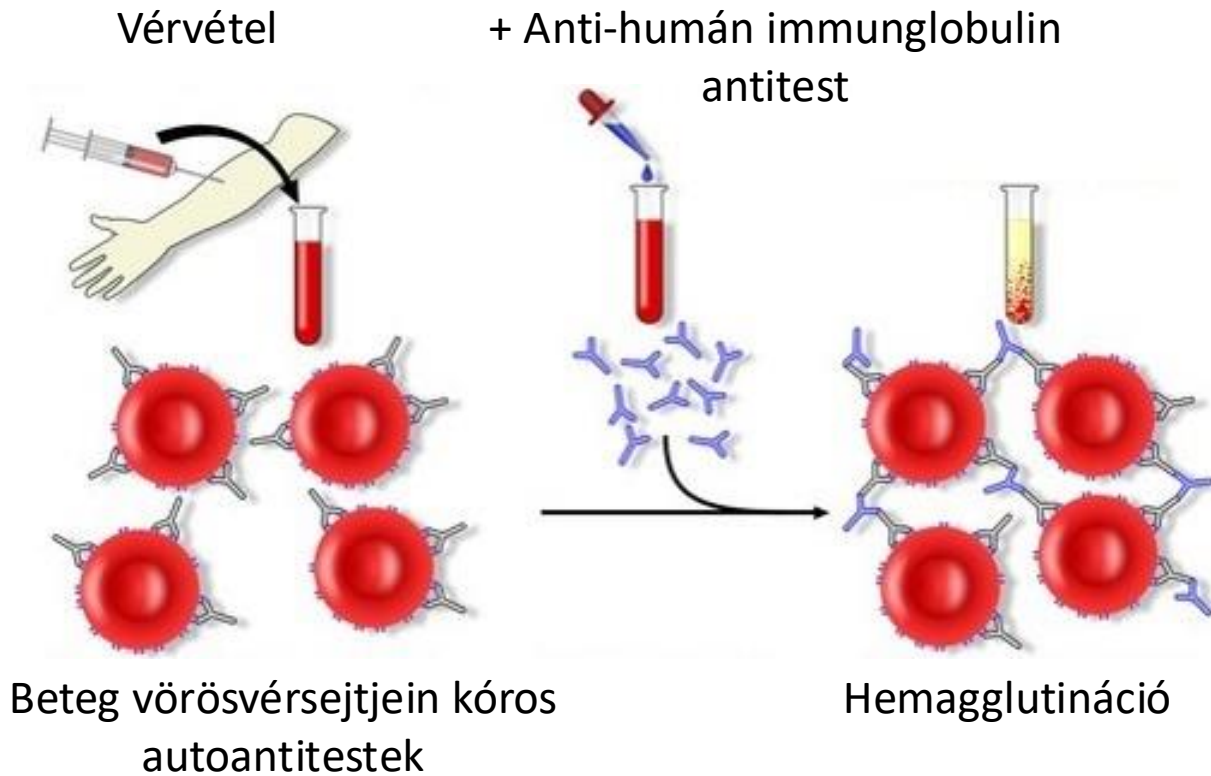
Gyakorlat menete:

1. Az asztalokon különböző latex agglutinációs kitek vannak kihelyezve.
2. Szérumminta nincsen, csak a kithoz adott negatív és pozitív kontrollt vizsgáljátok.
3. A kit leírása szerint külön karikákba cseppentsetek egy-egy cseppet a negatív és a pozitív kontrollból is.
4. Keverjétek össze a mellékelt pálcikákkal vagy döntögessétek.
5. Kis idő elteltével a pozitív kontrollban szemmel látható agglutináció megy végbe.



HÚZZATOK KESZTYŰT!

Direkt Coombs-teszt (DAT^[25.])

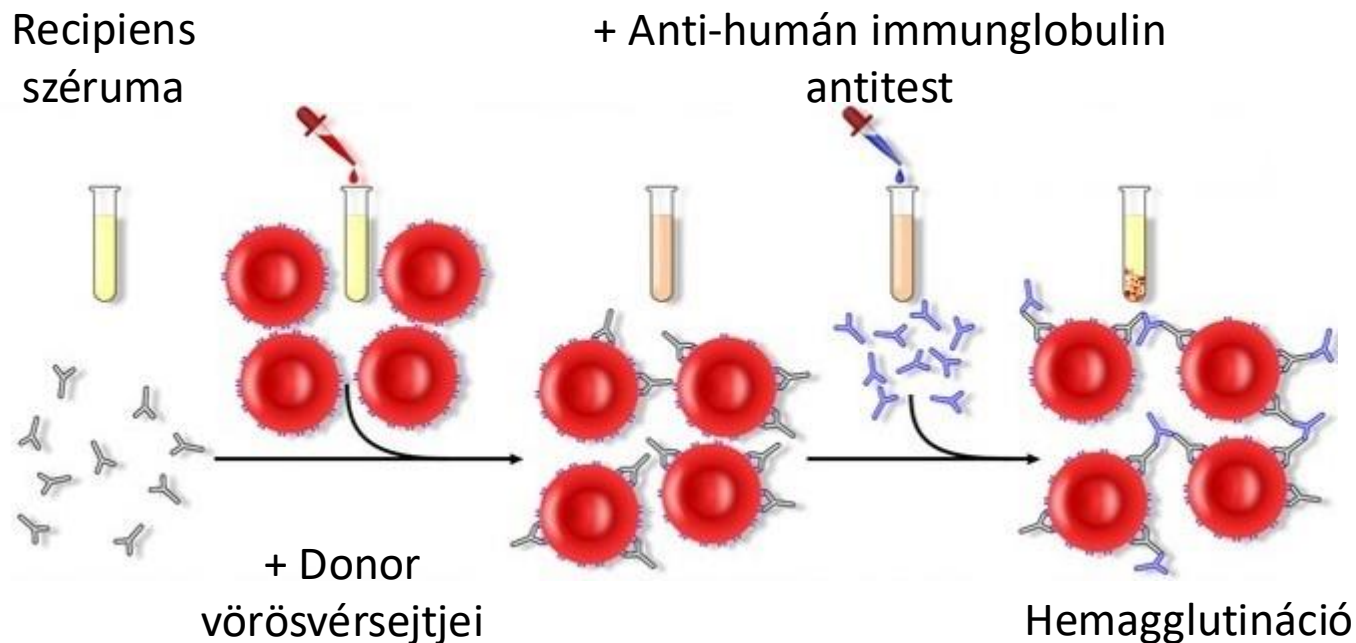


In vivo hemagglutináció

Felhasználása: **Immun-mediált haemolysisek** diagnosztikája,^[26.] pl.: AIHA-s betegben.

- AIHA (autoimmun haemolyticus anaemia, anaemia=vérszegénység)
- Erythroblastosis foetalis (Alloimmun magzati haemolyticus vérszegénység)

Indirekt Coombs-teszt (IAT)

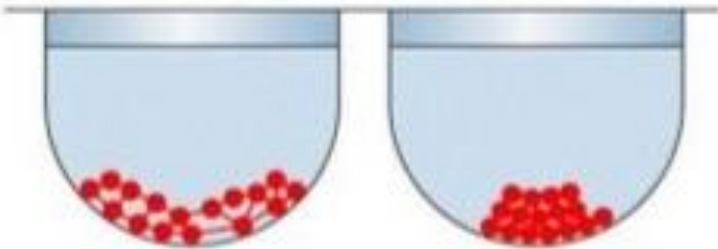
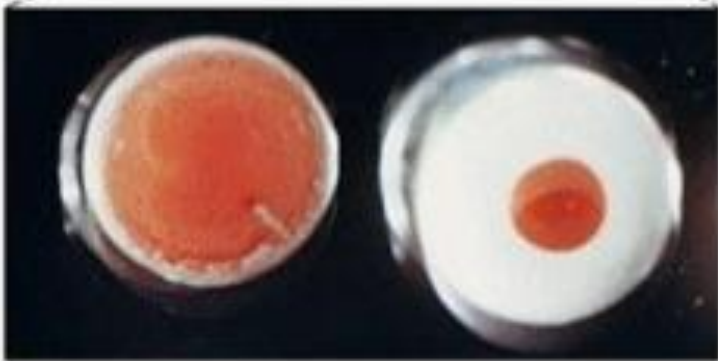


Felhasználás:

- **Vérátömlesztések** előtti antitest szűrés^[27.] (ABO és Rh mellett egyéb antitestek jelenlétét keresik a recipiens szérumában.)
- **Terhesgondozás** során a placentán átjutó, erythroblastosist okozó Rh(D)-ellenes antitestek szűrése.^[28.]

Hemagglutinációs assay

1:20 1:40 1:80 1:160 1:320 1:640 Kontroll



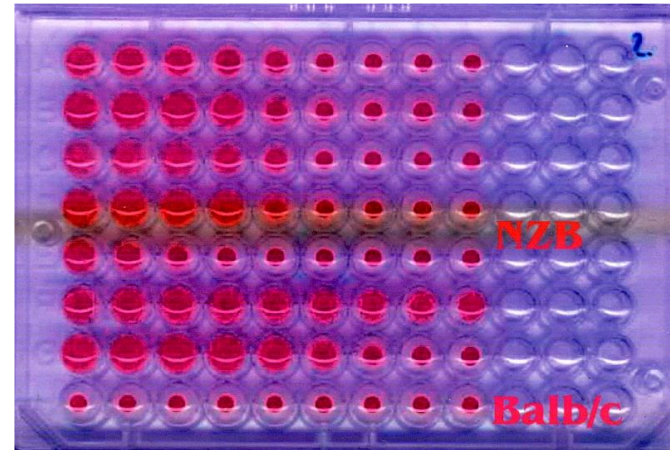
Hemagglutináció

Negatív

Minden részbe ugyannyi **vörösvérsejtet** helyeznek, majd a mintát sorozatos feles hígításokban adják hozzájuk.

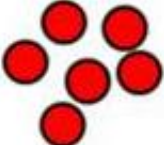





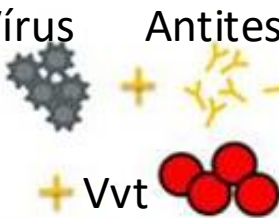




Pozitív reakció esetén a vörösvérsejtek összezsapzódnak és **nem tudnak lesülyedni a rés aljára**. (HA titer: a legkisebb hígítás, ami még agglutinációt okoz)



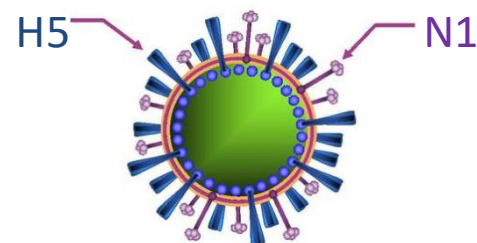
- NZB: New Zealand Black egértörzs^[29.] (autoimmun állatmodell)
- BALB/c: albínó házi egér (kontroll)

Hemagglutináció-inhibíciós assay

Összetevők	Reakció	Értékelés
Vvt 		Nincs reakció 
Vírus + Vvt 		Hemagglutináció 
Vírus + Antitest + Vvt 		Nincs reakció 

Egyes vírusok olyan fehérjékkel rendelkeznek, melyek segítségével in vitro hemagglutinációt tudnak létrehozni („hemagglutininek”).
Pl.:

- Influenza hemagglutinin
- Kanyaró hemagglutinin
- Mumpsz hemagglutinin



- Az egyes hemagglutininek azonosítására használható módszer, gyakorlati jelentősége a **vírusok antigén-szerinti besorolása**,^[30.] pl.: H5N1 = 5-ös típusú hemagglutinin (és 1-es típusú neuraminidáz) hordozó influenza vírus.
- Védőoltások hatására a hemagglutininek ellen termelt ellenanyagok vizsgálata az oltott egyéneknél.^[30.]

Hivatkozások 1.

1. Akobeng AK¹: **Understanding diagnostic tests 1: sensitivity, specificity and predictive values.** *Acta Paediatr.* 2007 Mar;96(3):338-41.
2. Mancini G, Carbonara AO, Heremans JF: **Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion.** *Immunochemistry.* 1965 Sep;2(3):235-54.
3. Ouchterlony O: **In vitro method for testing the toxin-producing capacity of diphtheria bacteria.** *Acta Pathol Microbiol Scand.* 1948;25(1-2):186-91.
4. Tiselius A¹: **Electrophoresis of serum globulin: Electrophoretic analysis of normal and immune sera.** *Biochem J.* 1937 Sep;31(9):1464-77.
5. Nobelprize.org: **The Nobel Prize in Chemistry 1948**
(http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1948/)
6. Jain S¹, Gautam V, Naseem S: **Acute-phase proteins: As diagnostic tool.** *J Pharm Bioallied Sci.* 2011 Jan;3(1):118-27. doi: 10.4103/0975-7406.76489.
7. O'Connell TX¹, Horita TJ, Kasravi B: **Understanding and interpreting serum protein electrophoresis.** *Am Fam Physician.* 2005 Jan 1;71(1):105-12.
8. Stoller JK¹, Aboussouan LS: **Alpha1-antitrypsin deficiency.** *Lancet.* 2005 Jun 25-Jul 1;365(9478):2225-36.
9. Link H¹, Huang YM: **Oligoclonal bands in multiple sclerosis cerebrospinal fluid: an update on methodology and clinical usefulness.** *J Neuroimmunol.* 2006 Nov;180(1-2):17-28. Epub 2006 Sep 1.
10. Abbott NJ¹, Patabendige AA, Dolman DE, Yusof SR, Begley DJ: **Structure and function of the blood-brain barrier.** *Neurobiol Dis.* 2010 Jan;37(1):13-25. doi: 10.1016/j.nbd.2009.07.030. Epub 2009 Aug 5.
11. Marshall T¹, Williams KM: **Electrophoretic analysis of Bence Jones proteinuria.** *Electrophoresis.* 1999 Jun;20(7):1307-24.

Hivatkozások 2.

12. Csako G¹: **Immuno-electrophoresis: a method with many faces.** *Methods Mol Biol.* 2012;869:339-59. doi: 10.1007/978-1-61779-821-4_28.
13. Csako G¹: **Immunofixation electrophoresis for identification of proteins and specific antibodies.** *Methods Mol Biol.* 2012;869:147-71. doi: 10.1007/978-1-61779-821-4_13.
14. Rajkumar SV¹, Kyle RA¹: **Protein electrophoresis and immunofixation for the diagnosis of monoclonal gammopathies.** *JAMA.* 2014 Nov 26;312(20):2160-1. doi: 10.1001/jama.2014.8237.
15. Vincent Rajkumar S¹: **Multiple myeloma: 2014 Update on diagnosis, risk-stratification, and management.** *Am J Hematol.* 2014 Oct;89(10):999-1009. doi: 10.1002/ajh.23810.
16. Walker JM¹: **Rocket immunoelectrophoresis.** *Methods Mol Biol.* 1984;1:317-23. doi: 10.1385/0-89603-062-8:317.
17. Walker JM¹: **Two-dimensional (crossed) immunoelectrophoresis.** *Methods Mol Biol.* 1988;3:299-310. doi: 10.1385/0-89603-126-8:299.
18. Mali B¹, Armbruster D, Serediak E, Ottenbreit T: **Comparison of immunoturbidimetric and immunonephelometric assays for specific proteins.** *Clin Biochem.* 2009 Oct;42(15):1568-71. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2009.06.016. Epub 2009 Jun 26.
19. Cooper NR, Nemerow GR: **The role of antibody and complement in the control of viral infections.** *J Invest Dermatol.* 1984 Jul;83(1 Suppl):121s-127s.
20. Anuradha V¹, Chopra A: **In the era of nephelometry, latex agglutination is still good enough to detect rheumatoid factor.** *J Rheumatol.* 2005 Dec;32(12):2343-4.
21. Kodama T¹, Ichiyama S, Morishita Y, Fukatsu T, Shimokata K, Nakashima N: **Determination of anti-streptolysin O antibody titer by a new passive agglutination method using sensitized toraysphere particles.** *J Clin Microbiol.* 1997 Apr;35(4):839-42.
22. Komoriya T¹, Terashima Y, Ogawa M, Moriyama M, Kohno H: **Development of a high-sensitivity latex reagent for the detection of C-reactive protein.** *J Immunol Methods.* 2011 Oct 28;373(1-2):63-6. doi: 10.1016/j.jim.2011.08.001. Epub 2011 Aug 26.

Hivatkozások 3.

23. Froehling DA¹, Elkin PL, Swensen SJ, Heit JA, Pankratz VS, Ryu JH: **Sensitivity and specificity of the semiquantitative latex agglutination D-dimer assay for the diagnosis of acute pulmonary embolism as defined by computed tomographic angiography.** *Mayo Clin Proc.* 2004 Feb;79(2):164-8.
24. Braunstein GD¹: **The long gestation of the modern home pregnancy test.** *Clin Chem.* 2014 Jan;60(1):18-21. doi: 10.1373/clinchem.2013.202655. Epub 2013 Sep 11.
25. Zantek ND¹, Koepsell SA, Tharp DR Jr, Cohn CS: **The direct antiglobulin test: a critical step in the evaluation of hemolysis.** *Am J Hematol.* 2012 Jul;87(7):707-9. doi: 10.1002/ajh.23218. Epub 2012 May 6.
26. Barcellini W¹: **Immune Hemolysis: Diagnosis and Treatment Recommendations.** *Semin Hematol.* 2015 Oct;52(4):304-12. doi: 10.1053/j.seminhematol.2015.05.001. Epub 2015 May 19.
27. British Committee for Standards in Haematology¹, Milkins C, Berryman J, Cantwell C, Elliott C, Haggas R, Jones J, Rowley M, Williams M, Win N: **Guidelines for pre-transfusion compatibility procedures in blood transfusion laboratories. British Committee for Standards in Haematology.** *Transfus Med.* 2013 Feb;23(1):3-35. doi: 10.1111/j.1365-3148.2012.01199.x. Epub 2012 Dec 6.
28. Abbey R¹, Dunsmoor-Su R: **Cost-benefit analysis of indirect antiglobulin screening in Rh(D)-negative women at 28 weeks of gestation.** *Obstet Gynecol.* 2014 May;123(5):938-45. doi: 10.1097/AOG.0000000000000224.
29. Yoshida S¹, Castles JJ, Gershwin ME: **The pathogenesis of autoimmunity in New Zealand mice.** *Semin Arthritis Rheum.* 1990 Feb;19(4):224-42.
30. Pedersen JC¹: **Hemagglutination-inhibition assay for influenza virus subtype identification and the detection and quantitation of serum antibodies to influenza virus.** *Methods Mol Biol.* 2014;1161:11-25. doi: 10.1007/978-1-4939-0758-8_2.