

Część I

Analityczne aspekty metod immunochemicznych istotne do oceny wiarygodności wyników oznaczeń hormonów, białek i przeciwciał	_____	1
--	-------	---

Rozdział 1

Immunochemia znana i nieznana	_____	3
1.1. Metody immunochemiczne	_____	7
1.2. Immobilizacja przeciwciał na fazie stałej	_____	9
1.2.1. Streptawidyna–biotyna	_____	12
1.2.2. Lektyny	_____	13
1.2.3. Białko A, białko G i białko A/G	_____	13
1.2.4. Inne sposoby immobilizacji cząsteczek na fazie stałej	_____	14
1.3. Cząsteczki rozpoznające analit w metodach immunochemicznych	_____	14
1.3.1. Przeciwciała	_____	14
1.3.2. Nanociąta	_____	15
1.3.3. Aptamery („syntetyczne przeciwciała”)	_____	16
1.3.4. Cząsteczki odwzorowane na polimerach (<i>molecular imprinted polymers</i> , MIP)	_____	19
1.4. Znaczniki w metodach immunochemicznych	_____	21
1.4.1. Znaczniki enzymatyczne	_____	21
1.4.2. Znaczniki chemiluminescencyjne	_____	23
1.4.3. Transfer energii rezonansowej	_____	25
1.4.4. Nanozymy	_____	27
1.5. Rodzaje metod immunochemicznych	_____	30
1.5.1. Metody immunochemiczne kompetycyjne	_____	30
1.5.2. Metody immunochemiczne niekompetycyjne	_____	35
1.5.3. Metody ELISA	_____	39
1.5.4. ELISPOT	_____	43
1.5.5. Metody immunochemiczne multipleksowe	_____	44
1.5.6. Immuno-PCR	_____	48
1.5.7. Metody aptamer-ELISA (metody ELASA)	_____	49

1.5.8. Metody kasetkowe (<i>lateral flow immunochemistry assay</i> , LFIA, metoda immunochromatograficzna z przepływem bocznym)	50
1.6. Pomiar awidności przeciwciał	57
1.7. Standaryzacja, kalibracja i harmonizacja metod immunochemicznych	59
1.7.1. Standaryzacja oznaczania hormonów	60
1.7.2. Harmonizacja metod oznaczania hormonów i białek swoistych	62
1.7.3. Standaryzacja oznaczania stężenia/obecności/miana autoprzeciwciał	62
1.7.4. Harmonizacja metod oznaczania autoprzeciwciał	65
1.8. Codzienna rzeczywistość immunochemii	66
1.9. Podsumowanie	68
Rozdział 2	
Błędy nieregularne (interferencje) w immunochemii	73
2.1. Definicja interferencji analitycznej	74
2.2. Częstość występowania interferencji	75
2.3. Znane interferencje w immunochemii	77
2.3.1. Reakcje krzyżowe – podstawowa interferencja w immunochemii	78
2.3.2. Interferencja od endogennych przeciwciał	86
2.3.3. Oznaczanie analitu w obecności autoprzeciwciał	93
2.3.4. Pomiar autoprzeciwciał – problemy analityczne i interferencje	96
2.3.5. Przeciwciała heterofilowe	99
2.3.6. Interferencje od zdefiniowanych przeciwciał w układ detekcyjny metody immunochemicznej	107
2.3.7. Białka wiążące – interferencja w metodach immunochemicznych czy problem analityczny?	115
2.3.8. Związki radioaktywne, związki fluorescencyjne i heparyna jako czynniki interferujące	118
2.3.9. Oznaczanie leków w płynach biologicznych	118
2.3.10. <i>Hook effect</i> – wyniki fałszywie zaniżone	119
2.4. Krótka refleksja...	124
Rozdział 3	
Poszukiwanie błędów egzogennych i endogennych w immunochemii	127
3.1. Wynik klinicznie niezgodny lub nieoczekiwany	128
3.2. Postępowanie przy poszukiwaniu przyczyn błędów nieregularnych	130

3.2.1. Powtórne oznaczenie stężenia analitu w tej samej próbce pacjenta	131
3.2.2. Ponowne oznaczenie stężenia analitu w próbce z nowego pobrania	132
3.2.3. Potwierdzenie wyniku stężenia analitu inną metodą immunochemiczną	132
3.2.4. Potwierdzenie wyniku stężenia analitu inną metodą (inną technologią)	135
3.2.5. Chromatografia na żelu (<i>gel filtration chromatography</i> , GFC)	138
3.2.6. Wiązanie immunoglobulin do białka A, białka G lub białka A/G	138
3.2.7. Test rozcieńczeń	139
3.2.8. Interpretacja wyników testu rozcieńczeń	141
3.2.9. Test odzysku	146
3.2.10. Strącanie białek glikolem polietylenowym 6000 (PEG)	147
3.2.11. Blokowanie przeciwciał interferujących	149
3.2.12. Znaczniki enzymatyczne jako źródło interferencji	149
3.2.13. Efekt wysokiej dawki (<i>hook effect</i>)	153
3.2.14. Relacja między hormonem nadrzędnym a hormonem docelowym	156
3.3. Efektywność identyfikowania czynników interferujących	157
3.4. Postępowanie w przypadku wykrycia interferencji (błędu nieregularnego)	159
Część II	
Czynniki wpływające na interpretację wyników immunochemicznych	165
Rozdział 4	
Metody immunochemiczne – błędy znane i nieznanne	167
4.1. Błędy w procesie diagnostycznym	168
4.1.1. Zlecenie badań laboratoryjnych	169
4.1.2. Błędy przedlaboratoryjne	173
4.1.3. Faza analityczna procesu diagnostycznego – czy tylko błędy przypadkowe i systematyczne?	176
4.1.4. Błąd analityczny typu 2 (endogenne), nieregularny	187
4.1.5. Faza poanalityczna – raportowanie wyników	190
4.1.6. Czas TAT (<i>turnaround time</i>) procesu diagnostycznego i procesu analitycznego	191

Rozdział 5	
Interpretacja wyników oznaczeń immunochemicznych	195
5.1. Zanim wynik będzie interpretowany	197
5.2. Interpretacja wyników	198
5.3. Narzędzia do interpretacji wyników	199
5.3.1. Przedział wartości referencyjnych	200
5.3.2. Pośrednie wyznaczanie wartości referencyjnych	204
5.3.3. Charakterystyka diagnostyczna testu	208
5.3.4. Interpretacja pojedynczego wyniku	210
5.3.5. Interpretacja wyników seryjnych	212
5.3.6. Personalizowany przedział wartości referencyjnych	214
5.4. Interpretacja wyników oznaczeń immunochemicznych jest sztuką	216

Część III	
„Pułapki” laboratoryjne w praktyce	219

Rozdział 6	
Jak teoria wyjaśnia częste problemy laboratoryjne i kliniczne w praktyce?	221

Rozdział 7	
Troponiny – wiarygodność oznaczeń podstawą postępu w diagnostyce kardiologicznej	223
7.1. Troponiny sercowe – co i jak oznacza laboratorium?	223
7.2. Metody oznaczania cTn o „wysokiej czułości”	224
7.3. LoB, LoD, LoQ	226
7.4. 99. percentyl	229
7.5. Zmienność biologiczna troponin	231
7.6. RCV czy <i>delta check</i> ?	231
7.7. Oznaczanie troponin sercowych – problemy analityczne	234
7.8. Przyczyny fałszywie zawyżonych wyników stężenia troponin	236
7.9. Interpretacja wyników oznaczania stężenia troponiny	243
7.9.1. Uszkodzenie mięśnia sercowego	243
7.9.2. Świeży zawał serca	244
7.9.3. Co dalej?	246
7.9.4. Troponina jako badanie POCT	247

Rozdział 8	
TSH i hormony tarczycy – im więcej wiadomo, tym trudniej interpretować wyniki	249
8.1. Formy TSH i hormonów tarczycy występujące w krążeniu	251
8.2. Metody oznaczania TSH i hormonów tarczycy (FT3, FT4, TT3, TT4)	251

8.2.1. Standaryzacja metod oznaczania TSH, FT3 i FT4	252
8.2.2. Wartości referencyjne dla TSH	254
8.2.3. Wartości referencyjne FT4 i FT3	255
8.3. Zmienność biologiczna TSH i hormonów tarczycy	256
8.3.1. Czynniki mające wpływ na stężenie TSH	257
8.4. Interferencje w metodach oznaczania TSH i FT4	259
8.4.1. Przeciwciała endogenne	260
8.4.2. Dysalbuminemie	264
8.4.3. Transtyretyna	265
8.4.4. TBG	266
8.4.5. Czynniki wypierające T3 i T4 z białek wiążących	266
8.4.6. Wariant receptora TSHβ	267
8.4.7. Wpływ leków	267
8.5. Krótka refleksja...	268

Rozdział 9	
Tyreoglobulina (Tg) – trudne oznaczenie w obecności autoprzeciwciał	271
9.1. Metody oznaczania Tg	273
9.1.1. Standaryzacja metod oznaczania Tg	274
9.1.2. Czułość metod oznaczania Tg	275
9.2. Interferencje w oznaczaniu Tg	276
9.2.1. Przeciwciała przeciwko tyreoglobulinie (TgAb)	276
9.2.2. Identyfikacja TgAb w próbce pacjenta	277

Rozdział 10	
Przeciwciała w diagnostyce chorób tarczycy – co i jak oznaczamy?	283
10.1. Przeciwciała przeciwko peroksydazie tarczycowej (TPOAb)	285
10.2. Przeciwciała przeciwko tyreoglobulinie (TgAb)	286
10.3. Przeciwciała przeciwko receptorom TSH (TSHR-Ab)	287

Rozdział 11	
Kalcytonina i CEA jako markery raka rdzeniastego tarczycy – nie ma prostej recepty na interpretację wyników	293
11.1. Kalcytonina	294
11.2. CEA	297

Rozdział 12	
Prolaktyna – klasyczny przykład problemów z makroformami białek	301
12.1. Analityczne aspekty oznaczania prolaktyny	303
12.1.1. Makroprolaktyna – interferencja analityczna czy problem kliniczny?	304
12.1.2. Inne interferencje w metodach oznaczania prolaktyny	311

12.1.3. Efekt <i>postzone</i> (efekt wysokiej dawki, efekt nadmiaru prolaktyny)	_____	312
12.1.4. Leki	_____	312
Rozdział 13		
Hormon wzrostu i IGF-1 – reakcje krzyżowe i wpływ białek wiążących na wiarygodność oznaczeń	_____	315
13.1. Metody oznaczania hormonu wzrostu (GH)	_____	317
13.1.1. Hormon wzrostu (GH) endogenny	_____	318
13.1.2. Hormon wzrostu (GH) egzogeny (doping w sporcie)	_____	321
13.2. Insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (IGF-1)	_____	321
13.2.1. Oznaczanie stężenia IGF-1	_____	323
13.2.2. Sposoby uwalniania IGF-1 z białek wiążących	_____	324
13.2.3. Warunki przedanalizacyjne	_____	324
13.2.4. IGF-1 SDS (Z-score)	_____	325
Rozdział 14		
CRP – proste oznaczenie, ale trudne do interpretacji	_____	327
14.1. Analityczne aspekty oznaczania stężenia CRP	_____	328
14.2. Interpretacja wyników CRP	_____	330
14.3. CRP – pentamer czy monomer?	_____	332
Rozdział 15		
Kortyzol: surowica, mocz czy ślina?	_____	335
15.1. Oznaczanie ACTH	_____	335
15.2. Metody oznaczania kortyzolu	_____	336
15.2.1. Kortyzol w surowicy	_____	338
15.2.2. Kortyzol w moczu	_____	340
15.2.3. Kortyzol w ślinie	_____	342
15.2.4. Kortyzol w ślinie nie tylko dla diagnostyki zespołu Cushinga – LFIA i biosensory dla kortyzolu	_____	343
15.2.5. Biosensory dla kortyzolu w pocie	_____	344
Rozdział 16		
Od danych i informacji do wiedzy i mądrości	_____	347
16.1. Jaka powinna być rola diagnostów laboratoryjnych?	_____	347
16.1.1. Diagnosta to nie tylko operator automatów laboratoryjnych	_____	348
16.1.2. Jakość testu laboratoryjnego a cel badania – rola diagnosty	_____	351
16.1.3. Jakość laboratorium gwarancją lepszej opieki nad pacjentem	_____	352
16.1.4. Wartość liczbowo wyniku nie ma znaczenia	_____	353

16.2. Czy sztuczna inteligencja (AI) pomoże diagnostom laboratoryjnym?	_____	355
16.3. Krótka refleksja...	_____	358
Skorowidz	_____	361