

<b>1. Generalități</b>	<b>13</b>	<b>3. Proteine, metaboliți</b>	<b>40</b>
1.1 Diagnosticul de laborator rațional	13	3.1 Proteine totale	40
1.2 Faza preanalitică	13	3.2 Albumina	41
1.2.1. Dezinfecția tegumentelor	13	3.3 Electroforeza proteinelor	42
1.2.2. Tipurile de probe și recoltarea lor	14	3.4 Alfa-1-globuline	43
1.2.3. Transportul probelor	18	3.5 Alfa-2-globuline	43
1.2.4. Posibile erori	18	3.6 Beta-globuline	43
1.3 Faza analitică	19	3.7 Gamaglobuline	44
1.3.1. Corectitudinea	19	3.8 Alfa-2-macroglobulina	44
1.3.2. Precizia	20	3.9 Beta-2 microglobulina (beta-2-M)	45
1.3.3. Coeficientul de variație	20	3.10 Factorul C2 al complementului	46
1.3.4. Deviația standard	20	3.11 Factorul C3 al complementului	46
1.3.5. Controlul	21	3.12 Activitatea complementului CH50	46
1.3.6. Asigurarea calității	21	3.13 Factorul C1 al complementului- inhibitor de esterază (C1-INH)	47
1.4 Faza post-analitică/interpretarea rezultatelor	22	3.14 Hiperimmunoglobulinemie	47
1.4.1. Intervalele de referință	22	3.15 Hipoimmunoglobulinemie	48
1.4.2. Sensibilitatea	23	3.16 Transferina	48
1.4.3. Specificitatea	23	3.17 Saturarea transferinei	49
1.4.4. Valoarea predictivă	24	3.18 CDT (transferina deficitară în carbohidrat)	50
1.4.5. Plauzibilitatea	26	3.19 Feritina	50
1.4.6. Evaluarea longitudinală	26	3.20 Fier	51
1.4.7. Evaluarea transversală	26	3.21 Testul desferoxaminei	52
1.5 Unități	26	3.22 Ceruloplasmina (Cp)	53
		3.23 PCR (proteina C reactivă)	54
<b>2. Metode analitice</b>	<b>29</b>	3.24 Procalcitonina (PCT)	55
2.1 Metode de determinare optice	29	3.25 Neopterină	56
2.2 Metode electrochimice	30	3.26 Alfa-1-antitripsina/Alfa-1-Pi (inhibi- tor al proteinazei)	56
2.3 Electroforeza	31	3.27 Haptoglobina (Hp)	57
2.4 Metodele imunologice	32	3.28 Hemopexina (Hx)	58
2.4.1. Evidențierea directă a antigenelor și a anticorpilor	32	3.29 Proteine de fază acută	58
2.4.2. Evidențierea indirectă a antigenelor și anticorpilor	34	3.30 Proteine de fază acută „negative”	59
2.4.3. Citometria de flux	36	3.31 Amoniac	59
2.5 Proceduri de separare cromatografică	36	3.32 Urea	60
2.6 Osmometrie	38	3.33 Acidul uric (urat)	62
2.7 Diagnosticarea biologică moleculară	38	3.34 Homocisteina	63
		3.35 Elastaza granulocitară	65
		3.36 Lizozim	66
		3.37 Mioglobina	67

3.38	Troponina T cardiacă/Troponina I cardiacă	68	4.3.2.	Aldosteron	88
3.39	Peptidul natriuretic atrial (PNA)	68	4.3.3.	Enzima de conversie a angiotensinei (ECA)	89
3.40	BNP/NT-proBNP	69	4.3.4.	Testul ortostatic - renină-aldosteron	90
3.41	VIP (polipeptidul intestinal vasoactiv)	70	4.3.5.	Testul cu captopril	91
3.42	Tulburări ereditare ale metabolismului aminoacizilor	70	4.3.6.	Hormonul antiuretice (ADH), vasopresina	92
3.42.1.	Fenilcetonuria	70	4.3.7.	Testul setei (testul restricției hidrice)	93
3.42.2.	Boala urinei cu miros de sirop de arțar	71	4.3.8.	Testul cu desmopresină, testul Minirin, testul DDAVP	94
3.42.3.	Homocistinuria	72	4.3.9.	Încărcarea cu sare	95
			<b>4.4</b>	<b>Hormonul de creștere</b>	<b>95</b>
			4.4.1.	Hormonul de creștere (growth hormone, GH, hormon somatotrop, STH)	95
			4.4.2.	Test GHRH (Growth-Hormone-Releasing-Hormone-Test)	96
			4.4.3.	Testul de încărcare cu glucoză	97
			4.4.4.	Testul de hipoglicemie cu insulină (THI)	97
			4.4.5.	Încărcarea cu arginină	98
			<b>4.5</b>	<b>Prolactina</b>	<b>98</b>
			4.5.1.	Prolactina	98
			4.5.2.	Testul cu metoclopramid	99
			4.5.3.	Testul TRH de stimulare a prolactinei	100
			<b>4.6</b>	<b>Hormonii sexuali</b>	<b>101</b>
			4.6.1.	17 $\beta$ -estradiolul (E2)	101
			4.6.2.	Progesteronul	102
			4.6.3.	Hormonul luteinizant (LH)	102
			4.6.4.	Hormonul foliculostimulant (FSH)	103
			4.6.5.	Testul GnRH (LHRH-Test)	104
			4.6.6.	HCG (gonadotropina corionică umană)	105
			4.6.7.	AFP (alfa-fetoproteina)	106
			4.6.8.	Testosteronul	107
			4.6.9.	Globulina de legare a hormonilor sexuali (SHBG)	108
			4.6.10.	Testul HCG	109
			<b>4.7</b>	<b>Catecolamine, serotonina și metaboliți</b>	<b>110</b>
			4.7.1.	Catecolaminele plasmatice	110
			4.7.2.	Catecolaminele urinare	111
			4.7.3.	Metaboliții catecolaminelor din urină	111
<b>4.</b>	<b>Hormoni</b>	<b>73</b>			
<b>4.1</b>	<b>Tiroida și paratiroida</b>	<b>73</b>			
4.1.1.	TSH (tireotropina)	73			
4.1.2.	TT4 (tiroxina)	74			
4.1.3.	TT3 (triiodtironina)	74			
4.1.4.	Hormoni tiroidieni liberi (fT3, fT4)	75			
4.1.5.	Globulina de legare a tiroxinei (TBG)	76			
4.1.6.	Testul TRH	77			
4.1.7.	Calcitonina	78			
4.1.8.	Parathormonul	79			
<b>4.2</b>	<b>Cortexul suprarenal</b>	<b>80</b>			
4.2.1.	Cortizolul	80			
4.2.2.	ACTH	81			
4.2.3.	Testul de inhibiție cu dexametazonă (doză redusă pentru testul scurt)	82			
4.2.4.	Testul de inhibiție cu dexametazonă (doză mare pentru testul lung, respectiv scurt)	82			
4.2.5.	Testul CRH, testul CRF = Testul Corticotropin-Releasing-Hormon/Factor	83			
4.2.6.	Testul ACTH (Testul Synacthen)	84			
4.2.7.	Androgenii suprarenalieni (DHEA, DHEAS, androstendionă)	85			
4.2.8.	17 $\alpha$ -Hidroxiprogesteron	86			
4.2.9.	11-dezoxicortizolul	86			
<b>4.3</b>	<b>Sistemul renină-angiotensină-aldosteron și hormonul antiuretice</b>	<b>87</b>			
4.3.1.	Renina	87			

4.7.4. Testul clonidinei	112
4.7.5. Testul cu glucagon	112
4.7.6. Acidul 5-hidroxiindol-acetic (5-HIAA)	112
4.7.7. Serotonina	113
4.7.8. 5-hidroxitriptofanul (5-HTP)	113

## 5. Markeri tumorali 115

5.1 Markeri tumorali relevanți clinic	116
5.2 Sensibilitatea pentru tumori solide (selectate)	127

## 6. Carbohidrați 132

6.1 Diabetul zaharat – clasificare	132
6.2 Diagnosticarea diabetului	133
6.3 Glicemia	133
6.4 Hiperglicemia	133
6.5 Hipoglicemia	134
6.6 Melituria	134
6.7 Glicozuria	134
6.8 Testul oral de toleranță la glucoză (TTGO)	135
6.9 Corpi cetonic	136
6.10 Hemoglobina glicozilată (HbA <sub>1c</sub> )	137
6.11 Fructozamina (proteine serice glicate)	138
6.12 Peptidul C (connecting peptide)	139
6.13 Testul de înfometare	140
6.14 Lactat	141
6.15 Glucagon	142
6.16 Testul cu glucagon	143
6.17 Tulburări ereditare ale metabolismului glucidic	144
6.17.1. Galactozemia	144
6.17.2. Melituri non-diabetice	144
6.17.3. Glicogenoze	144
6.17.4. Intoleranță la lactoză	144
6.18 Memorizator	144

## 7. Enzime 145

7.1 FA (fosfatază alcalină)	145
7.2 Fosfataza alcalină leucocitară	146
7.3 Alfa – amilaza	146
7.4 CHE (colinesteraza)	148
7.5 CK (creatinkinaza)	150
7.6 CK-MB	151
7.7 Macro-CK	152
7.8 Gama-GT (gama-glutaril-transferaza, GGT)	153
7.9 Glucoză-6-fosfat-dehidrogenaza	154
7.10 PK (priuvatkinaza)	156
7.11 Transaminazele	157
7.11.1. GOT = Glutamat-Oxalacetat-Transami- naza, denumire nouă: ASAT = Aspartat-transaminaza	157
7.11.2. GPT = Glutamat-Piruvat-Transaminaza, denumire nouă: ALAT = Alanin-transaminaza	158
7.12 Raport GOT-GPT, raport ASAT-ALAT	158
7.12.1. Raport De-Ritis	158
7.13 GLDH (Glutamatdehidrogenaza)	159
7.14 Coeficientul (GOT + GPT)-GLDH	159
7.15 LDH (Lactatdehidrogenaza)	160
7.16 HBDH (Hidroxiubutirat-dehidrogenaza)	161
7.17 Raport LDH-GOT	161
7.18 Lipaza	162
7.19 Fosfataza acidă (FAc)	163
7.20 Leucinaminopeptidaza (LAP) leucinarilamidaza catepsina III	164
7.21 Localizarea enzimelor	164
7.22 Examinări în suspiciunile de diagnostic	164
7.23 Timpii de înjumătățire ai enzimelor	165
7.24 Markerii cardiaci	165



10.14	Tempul de trombină, timpul plasmatic al trombinei (TZ/PTZ)	228	10.39	Trombofilia	254
10.15	Tempul de reptilază	229	10.39.1	Parametrii de laborator în diagnosticarea trombofiliei	254
10.16	Tempul de recalcificare	229	10.40	Modificări asociate ale parametrilor coagulării	255
10.17	Fibrinogenul	230			
10.18	Prođuși de degradare ai fibrinei și fibrinogenului, D-dimeri	231	<b>11. Transfuziologie 258</b>		
10.19	Hiperfibrinoliza	232	11.1	Sistemul grupelor sanguine	258
10.20	Trombelastograma	232	11.2	Examinări în transfuziologie	262
10.21	Antitrombina (AT)	233	11.3	Tempul util necesar în cazul transfuziilor planificate	265
10.22	Proteina C	233			
10.23	Proteina S	234	<b>12. Apă, electroliți 268</b>		
10.24	Rezistența APC/mutația factorului V Leiden	235	12.1	Tulburări hidroelectrolitice	268
10.25	Tempul de liză spontană	236	12.2	Spațiul extracelular	268
10.26	Tempul de liză al euglobulinei	236	12.3	Spațiul intracelular	268
10.27	Plasminogenul	236	12.4	Presiunea oncotică = coloidosmotică	268
10.28	Trombastenia	237	12.5	Aprecierea modificărilor volumului hidric	268
10.29	Heparina	238	12.6	Hiperhidratarea	269
10.30	Activitatea anti-Xa	238	12.7	Euhidratarea (izotonă)	269
10.31	Cumarine	240	12.8	Deshidratarea	269
10.32	Deficitul de factori	240	12.9	Osmolaritatea	269
10.33	Hemofilia	241	12.10	Osmolalitatea	270
10.34	Hemofilia cu anticorpi	241	12.11	Creșterea osmolalității serice	270
10.35	Factorul von Willebrand	242	12.12	Decalaj osmotic	270
10.36	Trombocitopenia indusă de heparină (TIH)	244	12.13	Decalaj anionic (ANION GAP)	270
10.36.1	Criterii clinice de diagnostic ale TIH tip II:	245	12.14	Sodiul	271
10.36.2	Confirmarea de laborator al TIH:	245	12.15	Potasiul	274
10.36.3	Propuneri pentru controlul numărului de trombocite sub terapia cu heparină	247	12.16	Clorul	275
10.37	Diateză hemoragică	249	12.17	Calciul	277
10.37.1	Diagnostic de laborator orientativ	249	12.18	Fosfatul	280
10.37.2	Diagnostic diferențial	249	12.19	Clasificarea definitivă a tuturor tulburărilor echilibrului hidro-electrolitic	281
10.38	Coagularea intravasculară diseminată (CID), coagulopatie de consum	250			
10.38.1	CID – evoluția temporală tipică a parametrilor de laborator	251	<b>13. Analiza gazelor sanguine 282</b>		
10.38.2	Diagnostic de laborator	251			
10.38.3	Terapia CID	253			

<b>14. LCR</b>	<b>287</b>	<b>16.24 Capacitatea secretorie (RPF, fluxul plasmatic renal)</b>	<b>311</b>
14.1 LCR macroscopic	287	16.25 Creatinina	312
14.2 Celule în LCR	287	16.26 Clearance-ul creatininei	312
14.3 Proteinele din LCR	288	16.27 Calculul ratei de filtrare glomerulară (formula MDRD)	314
14.4 Glucoza și lactatul în LCR	292	16.28 Cistatina C	315
14.5 Distincția LCR de secrețiile nazale	292	16.29 Clearance-ul fosfatului	316
		16.30 Ureea	317
		16.31 Calculi urinari	317
<b>15. Revărsat pleural, ascită</b>	<b>293</b>	<b>17. Tractul gastrointestinal</b>	<b>318</b>
15.1 Revărsatul pleural	293	17.1 Secreția gastrică	318
15.2 Ascita	294	17.1.1. Analiza secreției gastrice	318
		17.1.2. Gastrina	318
		17.1.3. Sindromul Zollinger-Ellison	319
		17.1.4. Testul de provocare cu secretină	320
		17.1.5. Testul cu pentagastrină	321
<b>16. Sistemul urogenital</b>	<b>295</b>	<b>17.2 Funcția pancreasului exocrin</b>	<b>322</b>
16.1 Examenul de urină	295	17.2.1. Examenul coprologic	322
16.2 Evaluarea macroscopică	295	17.2.2. Chimotripsina	322
16.3 Testarea cu benzi	297	17.2.3. Elastaza pancreatică	323
16.4 Examinarea microscopică	298	17.2.4. Testul Pankreolauryl	323
16.5 pH	299	17.2.5. Testul NBT-PABA	324
16.6 Glucoza	299	17.2.6. Testul secretina-pancreozymina	325
16.7 Proteine	299	<b>17.3 Funcția intestinului subțire</b>	<b>326</b>
16.8 Proteine Bence-Jones	302	17.3.1. Testul de toleranță la xiloză, testul la xiloză	326
16.9 Eritrocite	303	17.3.2. Testul de încărcare cu lactoză	327
16.10 Hemoglobina	304	17.3.3. Testul Schilling (testul de resorbție al vitaminei B <sub>12</sub> )	327
16.11 Mioglobina	304	<b>17.4 Sânge ocult în scaun</b>	<b>328</b>
16.12 Leucocite	305	<b>17.5 Testarea albuminei din meconiu</b>	<b>329</b>
16.13 Corpi cetonici	305		
16.14 Bilirubina	305	<b>18. Aparatul locomotor</b>	<b>330</b>
16.15 Urobilinogen	306	18.1 Substanța osoasă	330
16.16 Nitriți	307	18.2 Markerii ai sintezei osoase	330
16.17 Amilaza	308	18.2.1. Fosfataza alcalină	330
16.18 Acidul fenilpiruvic	309	18.2.2. FA osoasă (BAP, „ostaza”)	331
16.19 Cistina și homocistina	309	18.2.3. Osteocalcina	331
16.20 Sulfiți	309		
16.21 Concentrația urinei, puterea de concentrare	310		
16.22 Clearance	310		
16.23 Rata de filtrare (RFG, rata de filtrare glomerulară)	311		

18.2.4. Propeptidele procologenului I (PICP, PINP)	332
<b>18.3. Markerii de resorbție osoasă</b>	<b>333</b>
18.3.1. Pyridine-Crosslinks (PyD, DPyD), β-CrossLaps (β-CTX)	333
18.3.2. Hidroxiprolina (OH-prolina)	334
18.3.3. Fosfataza acidă tartrat-rezistentă	335
18.3.4. Teloptidele din colagenul de tip I	335
<b>18.4. Rezultate de laborator în diverse boli osoase</b>	<b>336</b>

## 19. Anticorpi 337

19.1. Determinarea de Atc. în suspiciune de diagnostic	337
19.2. Anticorpi în detaliu	340
19.3. Coombs	358
19.4. HLA-B27	358
19.5. Screeningul hepatitei	359
19.6. Serologia sifilisului	362
19.7. Testele detaliate	363

## 20. Vitamine 365

20.1. Vitamina A	365
20.2. Betacaroten	366
20.3. Vitamina B <sub>1</sub>	366
20.4. Vitamina B <sub>2</sub>	367
20.5. Vitamina B <sub>6</sub>	367
20.6. Vitamina B <sub>12</sub>	368
20.7. Vitamina C	369
20.8. Vitamina D	370
20.9. Vitamina K	371
20.10. Acidul folic	372

## 21. Oligoelemente 374

21.1. Magneziu	374
21.2. Cupru	375
21.3. Zinc	376
21.4. Seleniu	377
21.5. Crom	377
21.6. Mangan	378

## 22. Intoxicații 379

22.1. Debutul acțiunii	379
22.2. Principalele simptome	379
22.3. Determinări de bază în suspiciune de intoxicație exogenă	380
22.4. Teste de laborator specifice din sânge și urină	380
22.5. Metode de eliminare	380

## Index 394

## 1. Generalități

### 1.1 Diagnosticul de laborator rațional

Condiția diagnosticului rațional este utilizarea precisă a metodelor de diagnostic. Testele clinico-chimice nu ar trebui utilizate ca și o „tactică de tras cu pușca”, ci complementar cu anamneza și cu investigațiile clinice și instrumentale, în cadrul unui mozaic rațional. Numai atunci când există o suspiciune de diagnostic și/sau diagnostic diferențial în sensul unei „ipoteze de lucru”, este posibilă o selecție adecvată a analizelor.

#### Diagnosticarea în etape

Clarificarea treptată a diagnosticului diferențial al posibilelor boli.

- **Investigații de bază:** selecția din perspectiva probabilității diagnosticelor diferențiale și a costurilor,
- **Alte investigații:** în scopul confirmării, excluderii sau diferențierii suplimentare a posibilelor boli, de obicei cu efort și costuri asociate mai mari.

Avantajele rezidă în economii de costuri prin utilizarea țintită a investigațiilor mai scumpe, iar dezavantajul este diagnosticul întârziat. Ar trebui evitată diagnosticarea etapizată în bolile acute periculoase, care pot fi tratate (de exemplu DD de abdomen acut) dacă probabilitatea de diagnostic clinic este foarte mare.

### 1.2 Faza preanalitică

#### 1.2.1. Dezinfecția tegumentelor

- **Risc redus de infecție la recoltarea de sânge:** dezinfectantul cutanat va fi lăsat să acționeze 30 de secunde.
- **Risc mediu de infecție:** în cazul canulelor utilizate timp îndelungat sau a catherelor, precum și la recoltarea pentru hemocultură pentru a evita contaminarea: dezinfectantul cutanat va fi lăsat să acționeze 30 de secunde, apoi se va repeta dezinfecția.
- **Risc înalt de infecție:** în cazul puncțiilor articulare și a puncționării altor cavități ale organismului: după curățarea tegumentelor, eventual îndepărtarea părului și degresare, dezinfectantul se va lăsa să acționeze 2,5 minute, iar apoi se va repeta dezinfecția (timpul total de acțiune 5 minute), cu mânuși sterile, mască orală.

## 1.2.2. Tipurile de probe și recoltarea lor

Definiție	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Specimen:</b> probă, ce trebuie examinată;</li> <li>• <b>Analit:</b> component al probei, a cărei natură și concentrație urmează a fi determinate (parametru, component).</li> </ul>
Procedură	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Analizele <b>calitative</b> identifică prezența/absența unei anumite substanțe într-o probă, dar nu precizează cantitatea acesteia;</li> <li>• Analizele <b>semicantitative</b> indică cantitatea, concentrația sau activitatea substanței respective, dar de o manieră imprecisă;</li> <li>• Analizele <b>cantitative</b> indică cantitatea exactă, concentrația sau activitatea substanței investigate sub formă de valori relative sau absolute.</li> </ul>
Sânge	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Sânge integral:</b> venos, arterial, capilar             <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pentru obținerea <b>plasmei</b> (sânge fără elemente corpusculare: 92-94% ser, 6-8% proteine plasmatice) se utilizează substanțe anticoagulante, precum EDTA, citrat, heparină Na/Nh<sub>4</sub>/Li și NaF. Se amestecă sângele nativ cu anticoagulant și după 10 minute este centrifugat la 2 000 g timp de 10 minute. Supernatantul obținut este plasma. <b>Avantaje</b> ale plasmei: coagularea nu trebuie așteptată (acest lucru economisește timp, aproximativ 30 de minute), randament material cu 10-20% mai mare, evitarea modificărilor legate de coagulare, nu apare coagularea post-centrifugare. <b>Dezavantaje:</b> contaminarea cu cationi, formarea de complexe a metalelor datorită EDTA și a citratului (inhibarea activității fosfatazei alcaline și a amilazei), electroforeza proteinelor se poate face doar după o prelucrare prealabilă;</li> <li>- Pentru a obține <b>ser</b> (plasma fără substanțele consumate la coagulare, în special fără fibrinogen) sunt de obicei utilizați aditivi pro-coagulanți, cum ar fi microsferă de activare a coagulării: sângele nativ este lăsat în repaus până la expirarea coagulării spontane, aproximativ 30 min, urmată de o centrifugare timp de 10 minute la 2 000 g. Supernatantul obținut corespunde serului.</li> </ul> </li> </ul>

- **Sânge capilar:** proaspăt, heparinizat, deproteinizat, hemolizat; recoltare: pulpa degetului inelar prin puncționare pe fața laterală externă (fibre nervoase senzitive!), se va îndepărta prima picătură de sânge de dimensiunea unei gămălii și apoi se umple, în funcție de necesitate fie un capilar, fie se încarcă banda de testare, fără a o atinge direct cu degetul. Acest lucru poate fi susținut de un ușor masaj al degetului de la rădăcină spre vârf, apăsarea și compresiunea ar putea duce la scurgeri de fluid tisular și trebuie evitate. Recoltarea se poate face, de asemenea, din lobul urechii, iar la nou-născuți de la călcâi.

#### **Anticoagulante folosite pentru obținerea plasmei și utilizarea lor**

- **EDTA (etilendiamintetraacetat):**  
Anticoagulant prin complexare cu calciu. EDTA este folosit ca di-potasiu, tri-potasiu și sare disodică. Pe lângă calciu sunt complexați și alți ioni bivalenți, cum ar fi magneziul și cuprul. Activitatea unor metaloenzime, care este cuplată cu ionii bivalenți, cum ar fi FA și alfa-amilaza este afectată, respectiv redusă. Mai mult, unii factori de coagulare (V, VIII) sunt inactivați și este perturbată polimerizarea fibrinei, motiv pentru care EDTA nu este adecvată pentru analiza coagulării. Se utilizează în **hematologie** și în analiza **lipoproteinelor**. Efectul de diluție este < 1%.
- **Citratul:**  
Citratul trisodic se leagă de ionii de  $\text{Ca}^{2+}$ . Acesta este utilizat ca anticoagulant pentru efectuarea tuturor **probelor de coagulare**. Raportul de amestecare de 1:10 (1 parte citrat: 9 părți de sânge) trebuie să fie respectat întocmai, în scopul obținerii de rezultate utile. Chiar și mici abateri conduc la valori semnificativ eronate. Testele trebuie să fie efectuate în interval de 2 ore. Se utilizează și pentru determinarea **vitezei de sedimentare a hematiilor**, raportul de amestecare fiind de 1:5 (1 parte citrat: 4 părți de sânge). VSH ar trebui determinat în decurs de 4 ore de la recoltare.

**• Heparina**

Heparina **inhibă activarea protrombinei în trombină, scindarea fibrinogenului în fibrină și stabilizează plachetele**, ceea ce face ca procesul de coagulare să fie inhibat.

**Aproape toți parametrii** clinico-chimici pot fi determinați din plasma heparinată. Excepție fac amoniacul și fosfataza acidă din vacutainerul (tubul) cu heparinat de amoniu respectiv litiul și fosfataza acidă din tubul cu heparinat de litiu. De obicei sunt determinați electroliții, substraturile, enzimele și se execută din plasma heparinată analiza gazelor sanguine.

**• Fluorura**

Fluorura de sodiu este utilizată ca și inhibitor al **glicolizei** împreună cu un anticoagulant (EDTA/oxalat) pentru determinarea **glucozei sau lactatului**. Prin eliminarea ionilor de  $Mg^{2+}$  sunt inhibate enzime ale glicolizei, în special enolaza. La temperatura camerei, stabilitatea nivelului glucozei este asigurată timp de 24 de ore.

**Particularități**

- **Tuburile de coagulare:** trebuie să fie umplute exact până la marcaj, pentru a ține cont la comunicarea rezultatelor de diluarea probei prin anticoagulantul aflat deja în tub;
- **Prođuși de degradare ai fibrinei/fibrinogenului (FDP):** Pentru a evita apariția in vitro de produși generați de degradare, este necesară o coagulare rapidă și completă;
- **Transport > 1 h sau stocare** îndelungată: necesitatea separării serului/plasmei și a coagulului sanguin;
- **Determinarea grupei sanguine:** sânge venos integral (eritrocitele și serul sunt necesare), fără utilizarea de anticoagulant (anticoagulantele pot perturba reacția Atg - Atc.);
- **Electroforeza proteinelor:** determinarea obligatorie din ser, deoarece fibrinogenul conținut în plasmă ar putea simula o paraproteină monoclonală;
- **Electroforeza lipoproteinelor:** nu se poate efectua din plasma heparinată, deoarece lipoproteinele sunt precipitate de heparină.

## 2. Metode analitice

### 2.1 Metode de determinare optice

- **Fotometrie:**

„Măsurarea luminii” cu ajutorul unui fotometru pentru determinarea concentrației substanțelor sau a particulelor din soluții. Materialul de testat dintr-o cuvă este penetrat de o rază de lumină de o anumită lungime de undă. Deoarece multe dintre substanțele chimice dizolvate absorb radiații în regiunea spectrală vizibilă, ultravioletă sau infraroșie, se utilizează lungimile de undă specifice materialului, cel mai puternic absorbite. Se măsoară atenuarea fascicului de lumină (absorbanță) și se calculează valoarea concentrației analitului.

- **Fluorometrie (fluorofotometrie):**

Metodă de măsurare foarte precisă, care utilizează proprietatea unor molecule de a absorbi lumina de o anumită lungime de undă și imediat după aceea să o retransmită cu o energie puțin mai mică și cu o lungime de undă mai mare. Lumina emisă este măsurată în unghi drept față de fasciculul de lumină incident. De obicei se aplică fluorospectro(foto)metria cu lumină monocromatică pentru excitarea fluorescenței și filtrarea luminii emise cu un alt monocromator.

- **Turbidimetrie:**

Metodă analitică cantitativă, prin care pot fi determinate concentrațiile particulelor din lichide și gaze. Măsurarea turbidității se bazează pe atenuarea fascicului de lumină (absorbanță) ce penetrează suspensia (vezi: în nefelometrie lumina dispersată rezultată este măsurată direct). Spre deosebire de fotometrie, lumina nu este absorbită în cuvă, ci împrăștiată de particulele nedizolvate (cum ar fi picăturile de ulei în emulsii sau conglomerate antigen-anticorp în soluții dispersate). Cu cât este mai mare turbiditatea, cu atât este mai mare concentrația substanței. Metoda este adecvată în special pentru determinarea proteinelor plasmatică și a medicamentelor în ser imun specific (imunoturbidimetrie).

- **Nefelometrie:**

Metodă analitică cantitativă, prin care pot fi determinate concentrațiile particulelor din lichide și gaze. Fasciculul de lumină trimis prin mediul investigat este dispersat datorită efectului Tyndall (difracția și dispersia luminii în soluția coloidală datorită particulelor, care sunt mai mici decât lungimea de undă a luminii incidente, precum și prin diferențele de refracție între cele două faze dispersate), lumina dispersată formată este direct măsurată de un fotodetector (a se vedea: măsurarea turbidității prin turbidimetrie indirectă prin atenuarea unui fascicul de lumină care trece prin suspensie). Metoda este adecvată în special pentru determinarea proteinelor plasmatică și a medicamentelor în seruri imune specifice (immunonefelometrie).

## 2.6 Osmometrie

**Presiunea osmotică** a soluțiilor va depinde de numărul de particule din soluție. Aceasta este independentă de mărimea particulelor. Pentru a determina osmolaritatea (particule dizolvate per kg de soluție), se ține cont de faptul că, odată cu creșterea numărului de particule dizolvate scade punctul de congelare al unei soluții. Osmolaritatea poate fi determinată folosind un osmometru. Proba este răcită în mod continuu și un fir vibrator declanșează cristalizarea.

**Presiunea coloid-osmotică (oncotică)** a unei soluții o reprezintă masa nivelului de macromoleculă. Ea este determinată cu un oncometru, în care o membrană separă proba serică de o soluție salină fiziologică. Clorura de sodiu și apa, spre deosebire de albumină și alte proteine serice difuzează liber prin membrană. Prin mișcarea de volum, în proba serică se produce o scădere de presiune pe partea salină, care este măsurată.

## 2.7 Diagnosticarea biologică moleculară

### Reacția de polimerizare în lanț (PCR):

Pentru testele genetice sau pentru detectarea microorganismelor, secvența de ADN țintă nu este adesea disponibilă în cantitate suficientă. Pentru a crește sensibilitatea de detectare, prin urmare, este necesar să se reproducă specific acest ADN. Acest lucru este realizat prin PCR, care este capabil de a înmulți în câteva ore de un milion de ori cele mai mici cantități de ADN in vitro. Condiția este, ca ordinea bazelor, așa-numita secvență, a ADN-lui, care trebuie duplicat, să fie cunoscută.

Principiul este suprapunerea dintre cele trei etape de reacție în același vas de reacție, la diferite temperaturi. Reactivi:

1. **ADN-ul** care trebuie să fie replicat („ADN țintă”).
2. **Molecula starter („primer”)**: două oligonucleotide monocatenare diferite, dintre care una trebuie să fie complementară cu regiunea 3'-5' a catenei de ADN, iar cealaltă cu regiunea 5' - 3' de ADN.
3. **ADN-polimeraza** pentru a sintetiza ADN-ului nou; se utilizează **polimeraza Taq** stabilă la căldură a unei bacterii termofile, care nu este denaturată la temperaturi mai mari.

Toți reactivii sunt stabili termic, aceștia trebuie să fie adăugați la început în exces. Cursul reacției este determinat de temperatură și constă din trei faze:

1. **Denaturarea** ADN-ului dublu-catenar la temperaturi de peste 90°C. ADN-ul este separat reversibil în componente unice.

### 3. Proteine, metabolisme

#### 3.1 Proteine totale

<b>Indicații</b>	VSH patologic, proteinurie, edem, poliurie, boli renale cronice, boli hepatice cronice, diaree cronică, tumori maligne, susceptibilitatea la infecții, dureri osoase, limfoame, hemoragie, sarcină, traume, șoc.	
<b>Valori normale</b>	Ser/plasmă: <b>65–85 g/l</b> 45–75 g/l Urină: ≤ 0,15 g/d LCR: 0,15–0,45 g/l	<b>6,5–8,5 g/dl</b> (copii și adulți) 4,5–7,5 g/dl (nou-născuți și sugari) ≤ <b>150 mg/zi</b> 15–45 mg/dl
<b>Patologic</b>	<b>Disproteinemie:</b> schimbări calitative și cantitative în compoziția proteinelor din ser.	
↑ în	<b>Hiperproteinemie:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>absolută: creștere imunoglobulinelor:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Infecții cronice (rar &gt; 90 g/l);</li> <li>- Gamapatii monoclonale (până la 140 g/l), de exemplu, în mielom multiplu sau macroglobulinemia Waldenström.</li> </ul> </li> <li>• <b>relativă:</b> pseudo-hiperproteinemie prin <b>reducerea volumului plasmatic</b> în deshidratare, de exemplu, ca urmare a diabetului insipid, diareei, setei.</li> </ul>	
↓ în	<b>Hipoproteinemie:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>absolută: pierderea de albumină sau defect de sinteză,</b> Scăderea gamma-globulinei: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Renală (sindrom nefrotic, glomerulonefrită);</li> <li>- Enteropatia exudativă (boala Crohn, colita ulcerativă);</li> <li>- Arsuri (pierderile prin piele);</li> <li>- Puncționarea frecventă a ascitei/pleureziei;</li> <li>- Hepatită acută virală;</li> <li>- Insuficiența pancreatică.</li> </ul> </li> <li>• <b>relativă:</b> Pseudohipoproteinemie = „<b>hipoproteinemie de diluție</b>” din cauza hiperhidratării prin terapie parenterală, ca răspuns la pierderea de sânge, sarcină.</li> </ul>	
<b>Material</b>	Ser, plasmă (heparină), urină, lichid cefalorahidian, lichide de puncție	

<b>Metode</b>	<p><b>Ser</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Metoda Biuret: adăugarea ionilor de Cu (II) la un pH alcalin de legăturile peptidice. Intensitatea culorii violet rezultată este liniară cu numărul de legături peptidice și astfel cu concentrația proteinelor într-o gamă largă;</li> <li>• Metoda Kjeldahl: prin determinarea conținutului de azot.</li> </ul> <p><b>LCR și urină</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Metoda Coomassie: prin intermediul colorantului textil albastru briliant de Coomassie;</li> <li>• Tehnica bazată pe dispersia luminii: Proteinele din soluții cu conținut scăzut de proteine, cum ar fi lichidul cefalorahidian sau urina, se denaturează prin adăugarea de acid tricloracetic. Proteinele denaturate dispersează lumina cu lungime de undă scurtă.</li> </ul>
---------------	---

### 3.2 Albumina

<b>Funcție</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Menținerea presiunii osmotice coloidale</b> (80% datorită albuminei);</li> <li>• <b>Principalul vehicul de transport calitativ și cantitativ</b> (în special pentru substanțele cu solubilitate scăzută în apă, cum ar fi acizii grași liberi, bilirubina, hormoni, medicamente).</li> </ul>
<b>Indicație</b>	Toate condițiile medicale care pot fi asociate cu modificări ale proteinelor.
<b>Formare</b>	În ficat cca 14 g/zi; T1/2 plasmatic: 20 zile.
<b>Valori normale</b>	<p><b>Ser:</b> 35-50 g/l.</p> <p><b>Urină:</b> până la 20 mg/l și &lt; 30 mg/24 ore.</p> <p><b>LCR:</b> 110-350 mg/l.</p>
<b>↑ în</b>	Hiperalbuminemia nu există.
<b>↓ în</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Scăderea sintezei</b> (insuficiență hepatică, malnutriție proteică);</li> <li>• Creșterea spațiului de distribuție („capillary leakage”, septicemie, șoc);</li> <li>• <b>Pierderea în „al treilea spațiu”</b> (ascită, edem);</li> <li>• Pierderea în exterior (arsuri, enteropatie exudativă, sindrom nefrotic);</li> <li>• <b>Răspuns de fază acută</b> (proteine de fază acută negative!).</li> </ul>

## 4.7 Catecolamine, serotonina și metaboliți

## 4.7.1. Catecolaminele plasmatice

Indicații	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Screening în suspiciunea de feocromocitom</b> (determinarea concentrației plasmatice bazale de catecolamine este mai puțin sensibilă și specifică decât determinarea catecolaminelor din urina pe 24 h).</li> </ul>
Valori normale	<p><b>Catecolamine în plasmă (în condiții de repaus):</b></p> <p><b>Adrenalina:</b> 10-80 ng/l (0,055-0,44 nmol/l); Factor de conversie: ng/l x 0,0055 = nmol/l ;</p> <p><b>Noradrenalina:</b> 100-600 ng/l (0,59-3,54 nmol/l); Factor de conversie: ng/l x 0,0059 = nmol/l;</p> <p><b>Dopamina:</b> 10-150 ng/l (0,065 - 0,975 nmol/l); Factor de conversie: ng/l x 0,0065 = nmol/l;</p> <p>La copii, valorile normale sunt cu aproximativ 50% mai mici.</p>
↑ în	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Simpaticotomie crescută, stres, hipoglicemie;</b></li> <li>• <b>Noradrenalina &gt; 2 000 pg/l în repaus:</b> indiciu clar de <b>feocromocitom</b>;</li> <li>• <b>↑ Predominanță a dopaminei:</b> indiciu pentru <b>neuroblastom sau feocromocitom malign</b>.</li> </ul>
Material	<p>Accesul venos se asigură cu 30 de minute înainte de recoltarea sângelui, pacientul se odihnește în poziție culcată pentru cel puțin 30 de minute. Ortostatismul chiar de scurtă durată crește nivelurile catecolaminelor plasmatice cu 50-100%.</p>
Metodă	<p>Cromatografie lichidiană cu presiune înaltă (HPLC), detecție electrochimică.</p>

## 4.7.2. Catecolaminele urinare

<b>Indicații</b>	Screening pentru suspiciunea de <b>tumoră producătoare de catecolamine</b> .
<b>Valori normale</b>	<p><b>Catecolamine în urina pe 24 h (aduți);</b></p> <p><b>Adrenalina:</b> <math>\leq 27 \mu\text{g/zi}</math> (<math>\leq 0,15 \mu\text{mol/zi}</math>); Factor de conversie: <math>\mu\text{g/L} \times 0,0055 = \mu\text{mol/l}</math>;</p> <p><b>Noradrenalina:</b> <math>\leq 97 \mu\text{g/zi}</math> (<math>\leq 0,57 \mu\text{mol/zi}</math>); Factor de conversie: <math>\mu\text{g/l} \times 0,0059 = \mu\text{mol/l}</math>;</p> <p><b>Dopamina:</b> <math>\leq 500 \mu\text{g/zi}</math> (<math>\leq 3,25 \mu\text{mol/zi}</math>); Factor de conversie: <math>\mu\text{g/l} \times 0,0065 = \mu\text{mol/l}</math>;</p> <p>La copii, valorile normale sunt mai mici.</p>
<b>↑ în</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Tumori producătoare de catecolamine</b> (de exemplu, feocromocitom, neuroblastom), cu o creștere foarte probabilă a catecolaminelor libere la <math>&gt; 3</math> ori peste normal;</li> <li>• <b>Hipertensiunea arterială esențială</b> (valori posibile de până la 2-3 ori peste normal);</li> <li>• <b>Stres, efort fizic, hipoglicemie.</b></li> </ul>
<b>Material</b>	Urina pe 24 h.
<b>Metodă</b>	Cromatografie lichidiană cu presiune înaltă (HPLC), detecție electrochimică.

## 4.7.3. Metaboliții catecolaminelor din urină

<b>Funcție/sinteză</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Acidul vanilmandelic (VMA):</b> produs de degradare al adrenalinei și noradrenalinei;</li> <li>• <b>Acidul homovanilic (HVA):</b> produs de degradare al dopaminei.</li> </ul>
<b>↑ în</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>VMA:</b> tumori secretante de <b>adrenalină și noradrenalină (de exemplu, feocromocitom)</b>;</li> <li>• <b>HVA:</b> tumori secretante de <b>dopamină (de exemplu, neuroblastom)</b>.</li> </ul>
<b>Material</b>	Urina pe 24 h.
<b>Observații</b>	Specificitate și sensibilitate mai reduse decât determinarea selectivă a catecolaminelor.

## 5.1 Markeri tumorali relevanți clinic

<b>CEA</b>	<b>Antigen carcinoembrionar</b> <b>Cut-Off</b> < 3,8 µg/l: normal (valori cut-off cuprinse între 1,5 - 5,0 µg/l în funcție de metodă); < 10 µg/l: zona gri (Hepatopatie? Istoric de fumător? Inflamație? Atenție: adenocarcinom); > 10 µg/l: suspiciunea unui proces malign; > 20 µg/l: indiciu clar de proces malign. <b>Interpretare</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Cc: carcinom de colon, gastric, pancreatic, mamar, hepatic, medular tiroidian, bronșic;</li><li>• În Cc de colon: corelație cu masa totală a tumorii; → crește în funcție de gradul de răspândire conform Dukes: A (0-20%), B (40-60%), C (60-80%), D (80-85%).</li><li>• Marker excelent, cu valori deosebit de ridicate pentru metastaze hematogene: os, ficat, pulmonar și în metastazele multiple;</li><li>• Benignă (valori mai ales &lt; 10 µg/l): hepatopatie (boală inflamatorie hepatică, alcool, ciroză hepatică), pancreatită, infecții GIT, inflamație a plămânilor, fumatul în antecedente;</li><li>• Determinarea în combinație cu alți markeri tumorali: sensibilitate crescută.</li></ul> <b>Fiziopatologie</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Glicoproteină cu un conținut de carbohidrați de 50%;</li><li>• Componentă normală a mucoasei colorectale, exprimat în special în GIT și pancreas. În plus, este prezent în alte celule epiteliale, cum ar fi epiteliul vaginal și diferite glande, cum ar fi foveolele gastrice și sudoripare.</li></ul>
------------	---

## Carcinom epitelioid clasic

- CYFRA 21-1 în revărsat ↑ (valori de obicei cu 3-4 cifre), CEA în revărsat normală;
- Ser: CYFRA 21-1 și CEA normale;
- În mezoteliom, pare să existe o asociere între concentrația CYFRA 21-1 din lichidul pleural și tipul histologic, existând valori mai mari în tumorile epitelioid de în comparație cu cele sarcomatoide și cele bifazice.

## Ascita

## Geneză malignă

## • CEA:













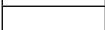

- Valori > 2,2 μg/l: sensibilitate de 83%, specificitate de 83%, PPV de 75%, NPV de 89%;
- Valori > 2,5 μg/l: sensibilitate de 45%, specificitate de 100%;
- Valori > 3,0 μg/l: sensibilitate de 51%, specificitate de 100%.

- CA 19-9: valorile > 30 kU/l: sensibilitate de 52%, specificitate de 100%, Valoarea predictivă pozitivă de 100%; valoare predictivă negativă de 50%.

- AFP: valori > 30 kU/l: sensibilitate de 52%, specificitate de 100%.

## Markeri tumorali relevanți clinic și ponderea acestora în diferite tumori

	CEA	CA 19-9	CA 72-4		
Stomac	■	■	■		
Pancreas	■	■			
Căi biliare		■			
Colon	■	■			
	CEA	CA 125	CA 15-3	CA 72-4	SCC
Mamar	■		■		
Ovarian		■		■	
Col uterin	■				■
Endometru		■			
	AFP	HCG			
Hepatocarcinom	■				
Celule germinale	■	■			
→ Corion		■			

	<b>PSA</b>	<b>CYFRA 21-1</b>	
<b>Prostată</b>			
<b>Veziică urinară</b>			
	<b>CYFRA 21-1</b>	<b>NSE</b>	<b>CEA</b>
<b>Plămâni, celule mici</b>			
<b>Plămâni, celule non-mici</b>			
	<b>CEA</b>	<b>SCC</b>	
<b>ORL</b>			
<b>Esofag</b>			
	<b>CEA</b>	<b>Calcitonină</b>	<b>HTG</b>
<b>Tiroidă</b>			
<b>Celule C</b>			



Marker primordial;



Marker, care nu este primordial sau este dar cu unele restricții;



Marker facultativ sau marker primordial, cu unele limitări referitoare la sensibilitate.

<b>AFP</b>	Alfa-1-fetoproteină	<b>HCG</b>	Gonadotropină corionică umană
<b>CA 15-3</b>	Antigen carbohidrat 15-3	<b>HTG</b>	Tireoglobulină umană
<b>CA 19-9</b>	Antigen carbohidrat 19-9	<b>NSE</b>	Enolază neuron-specifică
<b>CA 72-4</b>	Antigen carbohidrat 72-4	<b>PSA</b>	Antigen specific prostatic
<b>CA 125</b>	Antigen carbohidrat 125	<b>SCC</b>	Antigen al carcinomului cu celule scuamoase
<b>CEA</b>	Antigen carcinoembrionar		
<b>CYFRA 21-1</b>	Cytokeratin Fragment -19		

## Morfologia și caracteristicile granulocitelor neutrofile și a precursorilor lor

Celulă	Mie-loblast	Promie-locit	Mielocit	Meta-mielocit	Nesegmentat	Segmen-tat	Hiperseg-mentat
Ø	15 µm	20-25 µm	18-20 µm	15-20 µm	15 µm	15 µm	15 µm
Nucleu	Ro-tund, lax	Ro-tund, ușor neregulat, semi-dens	Ușor neregulat, semi-dens	Reni-form, dens	Formă de C sau S, nesegmentat, foarte dens	3-5 seg-mente, picnotic	> 3-5 seg-mente, picnotic
Nucleoli	1-5	1-5	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
Citoplasma	Bazo-filă	Bazo-filă	Bazofilă - oxifilă	Oxifilă	Oxifilă	Oxifilă	Oxifilă
Progranule grosiere (de maturizare)	Ø	++	+ - ++	Ø	Ø	Ø	Ø
Granule fine mature	Ø	Ø	Ø - +	++	++	++	++
Capacitate de multipli-care	+	++	++	(+)	Ø	Ø	Ø
% din ce-lulele albe sanguine	-	-	-	< 2%	2-5%	50-70%	< 2%

## Devieri de la distribuția normală

Deviere la dreapta					+	+++	++
Deviere ușoară la stânga				+	+	+++	
Deviere accentuată la stânga			+	+	++	++	
Mieloză cronică	+	+	++	++	++	++	
Leucemie acută	+++	+		+	+	++	

## Citologia medulară diferențiată

Granulocitopoieza	Valori normale%	Valori normale% raportate la 100 leucocite
Mieloblaste	1-4	0,5-6
Promielocite	3-14	5-26
Mielocite neutrofile	6-18	12-29
Metamielocite neutrofile	3-15	7-23
Neutrofile nesegmentate	5-17	11-24
Neutrofile segmentate	8-23	13-38
Eozinofile	0-9	0-13
Bazofile	0-1	0-2
Monocite	0-4	0-6
<b>Limfopoieză și sistemul reticular</b>		
Limfocite	2-26	
Plasmocite	0-3	
Histiocite	0-5	
<b>Eritropoieză</b>		
Proeritroblaști	1-3	
Macroblaști	2-9	
Eritroblaști	7-34	
Megaloblaști	--	
Megaloblastoide	--	
<b>Trombocitopoieză</b>		
Megacariocite	0-1	
<b>Alte celule</b>		
Mastocite tisulare	0-1	
Celule nediferențiate	Rare	
<b>Se numără de obicei 200 de celule</b>		
<b>Indice G/E:</b> raportul dintre granulocitopoieză (inclusiv limfocitele) și eritropoieză, Valoarea normală: 2-3/1 sau 2-3:1.		