

CAPITOLUL 1. COMPONENTELE SÂNGELUI. CARACTERISTICI.

1.1. RECOLTAREA PROBELOR DE SÂNGE

Recoltarea probelor de sânge se face prin metode invazive, ceea ce impune respectarea unui protocol strict, care se referă la toate aspectele acestui procedeu.

Mediul de lucru. Recoltarea se recomandă să fie făcută în camere sau incinte pregătite special cu mobilier, luminozitate, temperatură și condiții de igienă corespunzătoare.

Pregătirea personalului. Cadrele medicale trebuie să fie pregătite profesional pentru recoltarea probelor de sânge, să aibă echipament adecvat și să fie instruite pentru a realiza o bună comunicare cu pacienții.

Pregătirea pacientului:

- Recoltarea probelor de sânge se face în condiții de repaus fizic, psihic și de confort termic.
- Personalul medical va explica pacientului manoperele necesare, utilitatea și riscurile pe care le presupun aceste manevre.
- Cadrele medicale trebuie să obțină acordul pacientului pentru orice manoperă înainte de efectuarea acesteia.
- Cadrele medicale vor obține, din anamneza pacientului, date pentru identificarea acestuia și date cu caracter medical (stări fiziologice particulare, menstruație, graviditate, starea de hidratare, afecțiuni acute, afecțiuni cronice, tratamente efectuate etc.).

Momentul recoltării probelor de sânge.

În urgențe, recoltarea probelor de sânge se face în orice moment al zilei.

În cazul investigațiilor recomandate, se preferă recoltarea sângelui în condiții bazale: dimineața, după 6-8 ore de post alimentar și repaus fizic. Un număr restrâns de parametri biologici pot fi influențați de alimentele care cresc glicemia, lipemia și potasemia sau de medicamentele administrate anterior.

În cazul determinării unor parametri biologici care au ritm circadian cunoscut se recomandă recoltarea probelor de sânge în condiții identice și în același moment al zilei.



Observație! Momentul din zi, poziția corpului (clinostatism, ortostatism etc.), momentul față de administrarea de alimente sau lichide, efortul fizic, alte situații fiziologice, pot modifica valorile parametrilor determinați în sânge de la $\pm 5\%$ până la $\pm 10\%$. În consecință, recoltarea probelor de sânge se poate efectua fără restricții pentru majoritatea probelor biologice, cu excepția glicemiei, lipidelor plasmatice și a potasemiei.

Tipul de sânge recoltat.

Probele de sânge se obțin prin punșionarea unei vene sau a vaselor capilare. Sângele capilar se recoltează, la adult, prin înțeparea pulpei degetului inelar sau mijlociu, iar la sugar și copilul mic, prin înțeparea feței plantare a degetului mare de la picior sau a călcâiului. În anumite afecțiuni (endocardită, vasculite) se înțeapă lobul urechii pentru a obține celule endoteliale din capilare. Sângele capilar se folosește preferențial pentru examinări calitative și morfologice (frotiuri de sânge), dar poate fi utilizat și în teste chimice, imunologice și hematologice (de exemplu pentru determinarea hematocritului prin micrometodă).

Sângele venos se recoltează prin punctiunea venelor (flebotomie) de la plica antecubitală. La nevoie, la sugari se poate recolta și din vena jugulară, venele de pe fața dorsală a mâinii sau venele epicraniene.

Sângele arterial se folosește pentru dozarea gazelor (oxigen, dioxid de carbon, gaze rare, gaze toxice), dozarea bicarbonatului de sodiu, evaluarea echilibrului acido-bazic și pentru culturi bacteriologice în septicemii.

Materiale necesare recoltării probelor de sânge:

- degresarea și dezinfectarea tegumentelor se face cu eter și alcool 70%;
- punctiunea vasului de sânge și recoltarea sângelui se fac cu instrumentar steril: seringi și ace de unică folosință sau cu sisteme moderne de tip vacutainer, microtainer etc.;
- alte materiale: vată, garou;
- anticoagulant:
 - EDTA este preferat în tehnicile de leucoconcentrare și de separare a trombocitelor pentru studii citochimice;
 - amestec de oxalați Wintrobe: oxalat de amoniu 1,2 g, oxalat de potasiu 0,8 g, apă distilată 100 ml;
 - heparină;
 - citrat trisodic.



Observație: Tipul de anticoagulant, concentrația anticoagulantului, cantitatea de anticoagulant și cantitatea de sânge sunt dictate de metoda folosită pentru dozarea fiecărui component investigat în plasmă sau sânge integral.

Tehnica recoltării

- Se pune manșeta tensiometrului proximal de zona aleasă pentru punctiune și se crește presiunea aerului în manșetă, la valori situate între presiunea sistolică și presiunea diastolică, cu scopul de a opri circulația venoasă, permițând circulația arterială. În același scop se poate folosi garoul.
- Se degresează și se dezinfectează tegumentul.
- Se punctionează vena, după care se desface manșeta tensiometrului sau garoul și se așteaptă reluarea circulației venoase. Nu se recoltează sânge imediat după staza venoasă și se recomandă prelevarea primilor 2 ml de sânge și îndepărtarea acestora prin schimbarea seringii folosite.
- Pentru testele de coagulare, se recomandă punctiunea venei de la prima încercare, pentru a evita contactul prelungit cu tromboplastina tisulară. Instrumentarul folosit și recipientul pentru recoltare trebuie să fie perfect uscate.

Utilizarea probelor de sânge

- Sângele venos se folosește pentru teste chimice, imunologice și hematologice. Se recomandă efectuarea tuturor testelor necesare din proba de sânge venos, deoarece folosirea sângelui capilar pentru o parte dintre aceste teste duce la rezultate neconcordante.
- Examinarea citomorfologică și funcțională a sângelui se realizează curent din sângele venos și din sângele capilar. Nu se recomandă folosirea sângelui venos recoltat pe anticoagulant, pentru examenul morfologic pe frotiu, deoarece pot apărea: celule endoteliale, cristale de anticoagulant înglobat în leucocite și modificări ale elementelor figurate.

Timpul de prelucrare

- Se recomandă efectuarea testelor din sângele proaspăt recoltat, în special pentru testele de explorare a hemostazei.

- Sângele se păstrează la 4 – 8°C, timp limitat.
- După refrigerare, sângele va fi readus la temperatura camerei pentru efectuarea probelor. La temperatura camerei (18 – 26°C) poate fi păstrat maximum 6 ore de la recoltare.
- Se recomandă efectuarea testelor de coagulare și numărarea trombocitelor în interval de 1 oră de la recoltare, a V.S.H.-ului până la 2 ore, iar pentru alte investigații hematologice în maximum 3 ore de la recoltare. Pentru lamele cu frotiuri, se recomandă evitarea expunerii la umezeală, care produce degradarea celulelor.

Erori de tehnică. În raport cu metoda folosită, pot apărea rezultate fals pozitive sau fals negative. Exemple:

- tub defect;
- probă de sânge coagulată;
- probă de sânge insuficientă;
- probă de sânge hemolizată;
- metode de determinare efectuate la temperaturi extreme;
- instrumentar defect;
- instrumentar și aparatură necalibrată.



Studiu individual

Consultând cursul „Fiziologia sângelui”, un dicționar medical și alte materiale recomandate în bibliografie, răspundeți la următoarele cerințe:

1. Definiți termenii: puncție venoasă, flebotomie, garou, probă de sânge hemolizată, hemostază.
2. Identificați cel puțin 4 medicamente care pot influența valorile unor constante sanguine.

FIȘĂ DE LUCRU ÎN LABORATOR

1. Enumerați și explicați condițiile specifice de mediu și de pregătire a cadrelor medicale necesare pentru recoltarea probelor de sânge.

.....

2. În ce constă pregătirea pacientului pentru recoltarea probelor de sânge?

.....

3. Care sunt tipurile de sânge care se pot recolta de la pacienți?

.....

4. Enumerați investigațiile care pot fi efectuate din probele de sânge.

.....

5. Explicați manevrele de facilitare a puncției venoase prin aplicarea garoului sau aplicarea manșetei tensiometrului.

.....

6. Explicați de ce se recomandă degresarea și dezinfectarea tegumentelor.

.....

7. Enumerați substanțele folosite ca anticoagulant.

.....

8. Cum se obțin plasma și serul din probele de sânge?

.....

9. Care sunt cele mai frecvente greșeli de tehnică întâlnite în recoltarea probelor de sânge?

.....

10. Ce modificări au loc într-un eșantion de sânge recoltat pe anticoagulant și păstrat timp îndelungat?

.....

1. 2. PROPRIETĂȚILE FIZICO-CHIMICE ALE SÂNGELUI

Țesutul sanguin este un țesut mezenchimal de origine mezoblastică. Este format din două compartimente: sângele periferic și organele hematopoietice (măduva osoasă și organele limfoide). Sângele periferic este format din **plasmă**, în proporție de 55-60% și **elemente figurate**, în proporție de 40-45%. Elementele figurate ale sângelui sunt *eritrocitele*, *leucocitele* și *trombocitele*.

Plasma este mediul fluid care conține, dizolvate sau în suspensie, numeroase molecule organice, electroliți și elementele figurate.

Apa reprezintă cca. 93% din plasmă, restul fiind substanțe anorganice dizolvate (săruri minerale, gaze: CO₂ și O₂), sau substanțe organice (proteine, lipide, glucide sau combinații ale acestora).

Plasma are rol de transportor, atât pentru elementele celulare sanguine, cât și pentru diversele substanțe biologice active pe care le conține.

Proprietăți fizico-chimice ale sângelui

Culoarea. Culoarea sângelui este roșie, datorită fierului bivalent din molecula de hemoglobină (Hb), care absoarbe componentele spectrale violet și verde și le reflectă pe cele roșii. Saturația Hb cu oxigen determină o culoare roșu aprins, iar Hb redusă determină o nuanță închisă de roșu, mergând până la cianoză în cazul sângelui capilar cu saturație foarte redusă de oxigen.

Temperatura. Temperatura sângelui variază în funcție de organ și de intensitatea activității metabolice. De exemplu, în ficat, sângele are cea mai ridicată temperatură (40-41°C). Căldura specifică a sângelui (număr de calorii necesare pentru a ridica temperatura la 1 ml de sânge cu 1°C) are valoarea 0,9 kcal/l.

Densitatea. Densitatea sângelui și a plasmei permit aprecierea rapidă, cu ajutorul nomogramelor, a hematocritului, a cantității de Hb și a concentrației proteinelor plasmatică. Valorile normale sunt (kg/m³):

- pentru sânge: 1050 – 1070; (bărbați: 1057 – 1067, femei 1051-1061);
- pentru plasmă: 1024 – 1030;
- pentru eritrocite: 1090 – 1093.

Diferențele de densitate dintre eritrocite și plasmă explică tendința eritrocitelor de a sedimenta în plasmă (VSH).

Vâscozitatea. Vâscozitatea sângelui depinde, în principal, de concentrația proteinelor și numărul elementelor figurate. Are o valoare de 4 – 5 ori mai mare decât a apei, pentru care s-a stabilit convențional valoarea 1 (4,3 - 4,7 centipoise pentru sângele integral și 1,86 centipoise, pentru plasmă).

Factorii care influențează vâscozitatea sângelui sunt: concentrația fibrinogenului în plasmă, hematocritul, diametrul vaselor de sânge, viteza de curgere a sângelui și temperatura. Creșterea patologică a vâscozității sângelui are drept consecință obstrucția vaselor și tromboze locale.

Presiunea osmotică. Presiunea osmotică este presiunea care apare între două soluții cu compoziție diferită, separate printr-o membrană semipermeabilă. Aceasta permite trecerea solventului și nu permite trecerea substanțelor dizolvate.

Presiunea osmotică depinde exclusiv de numărul particulelor cristaline dizolvate în soluție. Valoarea presiunii osmotice este practic aceeași în sânge, plasmă, lichid extracelular și mediul intracelular, fiind un factor de bază al homeostaziei organismului. Presiunea osmotică determină sensul și intensitatea transferurilor de lichide prin membrane. Apa trece din mediul cu presiune osmotică mică (hipoton), spre cel cu presiune osmotică mai mare (hiperton), până la egalizarea presiunilor. Presiunea osmotică modificată determină

alterarea integrității celulare: în mediu hipoton, celulele se umflă cu apă și se sparg, în mediu hipertonic se deshidratează și se zbârcesc.

Valori normale:

- 7,6 – 8,1 atm; 5300 mmHg
- 660 kPa
- 280 – 310 mOsm/l

Indirect, valoarea presiunii osmotice se poate determina prin punctul crioscopic (temperatura de îngheț): -0,56 ... -0,58°C.

Presiunea oncotică. Presiunea oncotică sau coloid-osmotică reprezintă o parte din presiunea osmotică și este determinată de concentrația proteinelor. De exemplu, în plasmă, presiunea oncotică este 25 mmHg, iar în lichidul interstițial este 15 mmHg.

Presiunea hidrostatică. Presiunea hidrostatică este determinată de presiunea sistolică realizată de contracția ventriculului stâng și depinde de sectorul vascular unde se măsoară. De exemplu: 120 mmHg în artere la plica cotului, 35 - 40 mmHg în capilare și 10-15 mmHg la extremitatea venoasă a capilarului.

pH-ul. pH-ul se exprimă sub forma logaritmului zecimal cu semn schimbat din concentrația ionilor de hidrogen.

Valori normale: 7,38 – 7,42 (38 – 41 nM/l).

Valori extreme ale pH-ului, compatibile cu supraviețuirea: 6,8 – 8.



Studiu individual

Consultând cursul „Fiziologia sângelui” și materialele recomandate în bibliografie, răspundeți la următoarele cerințe:

1. Definiți: mediul izoton, hipoton, hipertonic.
2. Identificați: o soluție izotonă din organismul uman și o soluție izotonă produsă artificial.
3. Comparați valoarea normală a presiunii osmotice a plasmei cu valoarea normală a presiunii atmosferice.

FIȘĂ DE LUCRU ÎN LABORATOR

1. Care este culoarea sângelui? Explicați modificarea culorii în funcție de compartimentul vascular (artere, vene, capilare).

.....

2. Care sunt valorile normale ale densității sângelui, plasmei și hematiilor?

.....

3. Care este temperatura sângelui? Este un parametru biologic constant? De ce?

.....

4. În ce situații crește vâscozitatea sângelui?

.....

5. Ce consecințe are creșterea vâscozității sângelui asupra parametrilor hemodinamici ai circulației sanguine?

.....

6. Definiți presiunea osmotică.

.....

7. Care sunt valorile normale pentru presiunea osmotică?

.....

8. Presiunea hidrostatică a sângelui este un parametru constant? De ce? Dați exemple.

.....

9. Membrana celulară este o membrană semipermeabilă? Ce semnificație are acest concept?

.....

10. Definiți pH-ul. Care sunt valorile normale la om?

.....

11. Comentați participarea presiunii osmotice la homeostazia organismelor vii.

.....

1.3. REACȚII DE IDENTIFICARE A SÂNGELUI

Recunoașterea prezenței sângelui sau a urmelor de sânge are o mare importanță, atât în medicină curativă, *pentru evidențierea sângelui din diferite produse biologice*, cât și pentru medicina legală, atunci când este necesar *să se clarifice dacă eventualele pete sunt sau nu de sânge, dacă sângele este sau nu de om, precum și cărei grupe sanguine îi aparține*.

Acest lucru se realizează folosind metode care permit identificarea sângelui, specia căreia îi aparține sângele (om sau animal) și grupa sanguină, dacă sângele este uman.

Atât în laborator, cât și pentru munca de teren, criminaliștii sunt puși în situația de a analiza pete care par a fi de sânge. Aceștia trebuie să răspundă într-un timp relativ scurt, dacă petele analizate sunt sau nu relevante pentru ancheta în desfășurare.

Majoritatea testelor folosite pentru identificarea sângelui sunt *teste chimice*, ele fiind mult mai rapide decât *testele biologice de tip antigen-anticorp*. Acestea din urmă, deși sunt mult mai specifice, sunt mai greu de executat și necesită un timp mai lung de așteptare.

Determinarea prezenței sângelui se efectuează prin două tipuri de teste:

A. Teste de probabilitate, care au o mare *sensibilitate*, deoarece dau rezultate pozitive folosind cantități infime de sânge, dar au o specificitate redusă, în sensul că mulți compuși oxidanți (ex. peroxidazele din alte surse decât sângele) pot da aceleași rezultate pozitive. Din acest motiv, pentru un rezultat sigur, este necesară asocierea mai multor reacții de probabilitate.

B. Teste de certitudine, cu o mare *specificitate*, dar care necesită cantități mai mari de sânge.



Toate testele încadrate în reacțiile de probabilitate sunt, mai mult sau mai puțin, dependente de prezența hemoglobinei în pata analizată și, de aceea, vor genera rezultate pozitive la analiza sângelui animal.

A. Teste de probabilitate

Principiul general: unele substanțe sunt incolore în stare redusă, dar prin oxidare devin colorate. Oxidarea are loc în prezența unui **peroxid**, ca apa oxigenată și a unei **peroxidaze**, ca hemoglobina, care are o puternică acțiune peroxidazică.

Peroxidazele sunt substanțe cu structură asemănătoare catalazelor, fiind mai puțin răspândite în regnul animal, dar existente în cantități mari în lumea vegetală, mai ales în frunzele plantelor. Aceste enzime catalizează reacțiile de oxidare realizate de apa oxigenată (peroxid de hidrogen) sau de alți peroxizi, ca de exemplu cei rezultați din râncezirea oxidativă a uleiurilor și grăsimilor, având un rol important în "arderea" unor deșeuri celulare. Astfel, reactivii utilizați în acest tip de reacții pot da și reacții fals pozitive în prezența peroxidazelor din vegetale sau din lapte, a coloranților din țesuturi, a anumitor săruri (de fier, cupru, nichel, cobalt), a compușilor oxidanți (permanganat, bicromat), precum și în prezența pământului sau a ruginii. Din aceste motive, se consideră că aceste reacții au o specificitate redusă.

- **Reacția Adler** - reprezintă una dintre cele mai sensibile reacții de acest gen; în acest caz, peroxidaza sanguină (hemoglobina) eliberează oxigen activ din peroxid (apa oxigenată) și îl trece pe benzidină, oxidând-o într-un derivat colorat. În clinică, proba ADLER (testul ADLER) reprezintă metoda prin care se permite punerea în evidență a prezenței sângelui în materiile fecale - hemoragiile oculte în scaun.

În mod normal nu există sânge în materiile fecale. Prezența sa indică o afecțiune sângerândă a tubului digestiv: ulcer gastric sau duodenal, polipi intestinali, rectocolită ulcero-hemoragică, neoplasm, hemoroizi interni. Există o serie de recomandări pentru proba ADLER:

- înainte de prelevarea probei se va ține un regim timp de 3 zile: fără carne, pește, medicamente cu fier, hemoglobină, legume verzi;
 - se va controla ca scaunul emis să nu fie contaminat cu sânge provenit din hemoroizi sângerânți;
 - este recomandat ca testul să se repete de 2-3 ori la un interval de 2-3 zile, menținând regimul indicat;
 - proba se prelevă într-un recipient de plastic sau de sticlă, curat și uscat.
- **Reacția Guarino** - este mai puțin sensibilă, dar are o specificitate mai mare decât reacția Adler, motiv pentru care reacția este folosită în benzi comerciale de determinare a sângerărilor oculte în materiile fecale (teste denumite gFOBT).
- **Reacția cu luminol**. Cea mai răspândită reacție de catalizare din criminalistică este cea cu luminol. Luminolul sau 3-aminofthalhidrazina este un compus chimic utilizat de către poliția criminalistă pentru a descoperi urmele de sânge și de către biologi pentru cercetarea cuprului, fierului și a cianurii. Principalele componente capabile de a cataliza această reacție sunt hemul, diferite metale și peroxidaza. Utilizarea luminolului (în soluție alcalină și în prezența unui agent oxidant) se bazează pe proprietatea sa de a produce o reacție chimio-luminescentă albăstruie, la contactul cu sângele. După reacția de oxidare, o moleculă de oxigen suplimentar părăsește orbita normală și apoi se întoarce pe aceasta, moment în care are loc emisia de lumină.
- Reacția are loc sub o lampă care emite lumină cu lungimea de undă de 441- 452 nm. Reacția este extrem de sensibilă, fiind capabilă să detecteze prezența sângelui în diluții de 1:1.000.000. Luminolul *nu reacționează și nu produce reacții fals pozitive* în contact cu: plantele, anumite produse chimice de curățare, anumite metale sau diferiți catalizatori.
- **Reacția cu orto-toluidină** (bandă de hârtie HEMASTIX). Banda de hârtie HEMASTIX este impregnată, la unul dintre capete, cu un amestec tamponat de orto-toluidină și un peroxid organic. Peroxidul organic, în soluția acidă a sistemului tamponat și în prezența hemoglobinei (dar și a mioglobinei), se descompune cu eliberare de oxigen, care oxidează orto-toluidina într-un compus albastru.

B. Teste de certitudine

a) Testele cu formare de cristale. Toate aceste teste au ca principiu general formarea cristalelor derivate din hemoglobină apărând cristale de hemină.

- **Reacția Takayama**. Acest test se face la microscop, pe un frotiu de sânge peste care se adaugă agenți de cristalizare, observându-se apariția de cristale derivate din hemoglobină. Probabil cel mai cunoscut test în SUA și, posibil, cel mai larg utilizat de către criminaliști, este testul inventat de Takayama acum aproximativ 80 de ani. Principiul acestui test este simplu: la încălzirea ușoară a unui frotiu de sânge peste care se adaugă o soluție alcalină de piridină se poate observa, la microscop, formarea de cristale roz de piridină feroprotoporfirinică.
- **Reacția Teichmann**. Alături de reacția Takayama, reacția Teichmann este una dintre cele mai cunoscute; aceasta constă în formarea cristalelor de clorhidrat de hematină (clorhemină), prin reacția dintre clorura de sodiu și hematină, în prezența acidului acetic glacial, la cald. Hemoglobina tratată cu acid clorhidric va da naștere la clorhemină care se prezintă sub formă de cristale rombice, brune - cristalele Teichmann.
- **Reacția Stryzowski**, reacție analogă ca principiu reacției Teichmann, se referă la punerea în evidență a prezenței sângelui prin formarea cristalelor de iodhidrat de hematină, care au forma unor prisme mici, romboidale, de culoare roșie, grupate în diferite forme. Reactivul Stryzowski este format din alcool, apă distilată, acid acetic glacial și acid iodhidric.

Este general acceptat faptul că un rezultat pozitiv la testele de cristalizare confirmă prezența sângelui. Sensibilitatea acestor teste este de aproximativ 0,001 ml de sânge sau 0,1 mg de hemoglobină per proba analizată. Un rezultat negativ nu arată neapărat că sângele este absent din probă ci, poate indica un defect de tehnică. Interesant este faptul că pete de sânge de până la 20 de ani au dat rezultate pozitive la testele de cristalizare.

b) Teste care utilizează spectroscopia. Acestea permit identificarea hemoglobinei cu ajutorul spectrofotometrului, știind că hemoglobina produce o bandă de absorbție în intervalul 5893 Å – 5269 Å.

c) Teste care utilizează cromatografia lichidă de înaltă performanță (HPLC). Această tehnică poate fi utilizată pentru a confirma prezența de sânge. De asemenea, poate fi folosită pentru a identifica specia de la care provine sângele, știindu-se variațiile interspecii ale lanțurilor hemoglobinei. Poate să facă distincția între hemoglobina fetală și hemoglobina adultă, poate fi folosită pentru a estima vârsta unei pete de sânge etc.

d) Determinarea speciei de apartenență a sângelui (umană sau animală). Aceasta se realizează prin mai multe metode dintre care cele mai utilizate sunt cele imunologice. *Reacția de imunoprecipitare Uhlenhuth* se bazează pe formarea complexului antigen-anticorp; se manifestă prin apariția unui inel de culoare alb-lăptoasă la zona de contact dintre serul precipitant anti-om și maceratul obținut din pata de sânge.

e) Determinarea grupei de sânge. În medicina legală, determinarea grupei sanguine din petele de sânge se face prin evidențierea aglutininelor alfa și beta (prin metoda Lattes) și a antigenelor A, B și 0 (prin metoda absorbție-eluție).

- Prin **metoda Lattes** se determină aglutininele cu ajutorul eritrocitelor-test A și B, care pot fi sau nu aglutinate în prezența sângelui; tehnica este simplă, aglutinările citindu-se la microscop.
- **Metoda absorbție-eluție** se bazează pe proprietatea antigenelor din pete de a absorbi anticorpii omologi din ser. La ambele metode este bine să se lucreze în paralel și cu câte o probă martor, cu sânge cunoscut.

Lucrări practice efectuate în laborator.

A. Teste de probabilitate

Reacția Adler

Materiale necesare: benzidină; acid acetic glacial; apă oxigenată (3%); material de cercetat - sânge diluat; stativ cu eprubete.

Tehnica de lucru: se prepară, în momentul folosirii, o soluție saturată de benzidină în acid acetic glacial; la câteva picături de reactiv astfel preparat, se adaugă câteva picături de apă oxigenată și o picătură de sânge. Se va obține o colorare a reactivului în **albastru intens**.

Reacția Guarino

Materiale necesare: reactiv Guarino (dimetil-aniliă, acid acetic glacial și apă distilată); apă oxigenată; material de cercetat - sânge diluat; eprubetă.

Tehnica de lucru: într-o eprubetă, la câteva picături de reactiv Guarino se adaugă câteva picături de apă oxigenată și o picătură de sânge; reactivul se va colora în **galben**.

Reacția cu orto-toluidină

Materiale necesare: banda HEMASTIX; urină necentrifugată.

Tehnica de lucru: se amestecă bine urina necentrifugată și se introduce capătul impregnat al benzii în urină; se scoate apoi imediat și se citește în 30 de secunde. Apariția culorii **albastre**, indică prezența sângelui în urină.

B. Teste de certitudine

Reacția Teichmann.

Principiul reacției Teichmann, una dintre cele mai cunoscute reacții de cristalizare, constă în formarea cristalelor de clorhidrat de hematină (clorhemină), prin reacția dintre clorura de sodiu și hematină, în prezența acidului acetic glacial, la cald. Hemoglobina tratată cu acid clorhidric va da naștere la clorhemină, care se prezintă sub formă de cristale rombice, brune - cristalele Teichmann.

Materiale necesare: sânge; acid acetic glacial cu NaCl 1%; lamă; lamelă; bec de gaz; microscop.

Tehnica de lucru: se pune o picătură de sânge pe o lamă și se întinde un frotiu mai gros. Se usucă la căldură, până la 40 - 45°C (se controlează prin punerea lamei pe mână). Se adaugă acid acetic glacial cu NaCl și se acoperă cu lamela. Se încălzește până la fierbere. Culoarea preparatului devine maron-brună datorită formării clorheminei. Răcirea se va face lent, obținându-se astfel cristale mari de clorhemină. La microscop, **cristalele apar galben-roșcate sau brune**, cu forme de prisme alungite sau romboidale, cu unghiuri ascutite, izolate sau așezate în cruce ori în stea (figura 1.1.).

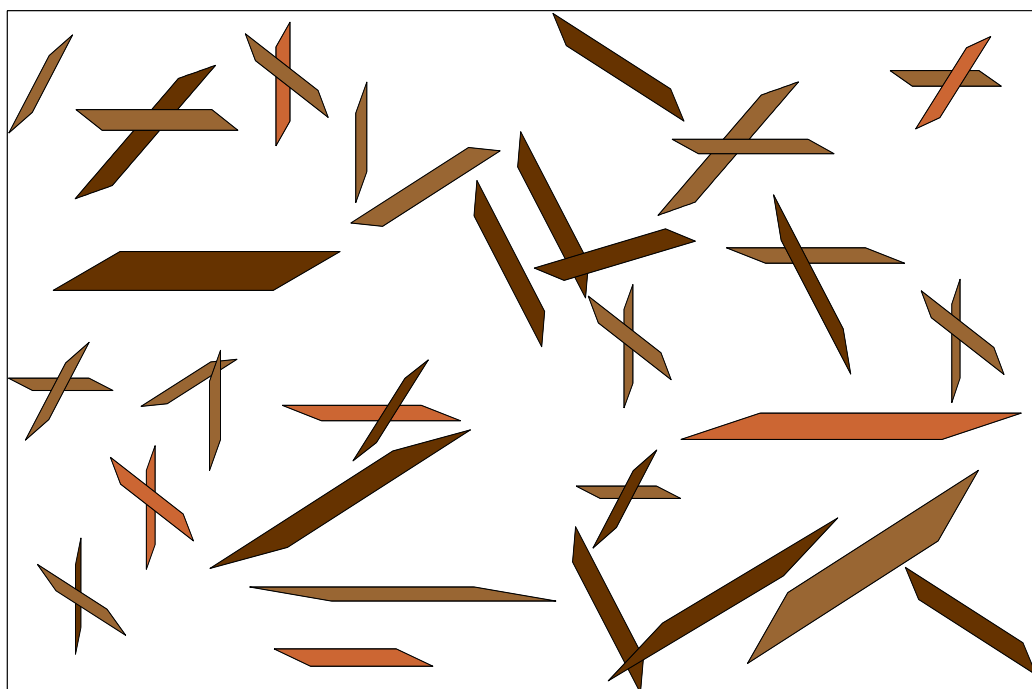


Figura 1.1. Cristale Teichmann.



Studiu individual

1. Folosind un dicționar medical sau alte materiale didactice, explicați următorii termeni: hemoragie ocultă, peroxid, cristalizare, antigen, anticorp, eluție.
2. Folosind un motor de căutare explicați abrevierea: gFOBT.

FIȘĂ DE LUCRU ÎN LABORATOR

1. Câte tipuri de teste de identificare a sângelui cunoașteți?

.....

2. Enunțați principiul general al testelor de probabilitate, folosite pentru identificarea sângelui.

.....

3. Când recomandăm o probă Adler?

.....

4. Ce culoare se obține în cazul unei reacții Adler pozitive și cum interpretăm acest rezultat?

.....

5. Care sunt recomandările date pacientului înainte de efectuarea probei Adler?

.....

6. Ce este luminolul și pentru ce este folosit?

.....

7. Care este principiul reacției de identificare a sângelui cu luminol?

.....

8. Ce culoare apare pe banda HEMASTIX dacă proba este pozitivă?

.....

9. Ce culoare și ce formă au cristalele din reacția Takayama?

.....

10. Ce culoare și ce formă au cristalele din reacția Teichmann?

.....

11. Cât de veche poate fi o pată de sânge pentru ca aceasta să nu mai fie identificată prin spectroscopie?

.....

1.4. PLASMA SANGUINĂ

Definiția plasmei. Plasma sanguină desemnează fracțiunea lichidă a sângelui. În plasmă se află în suspensie celulele sanguine: hematii, leucocite și trombocite. Este formată din apă (90%), substanțe anorganice dizolvate - săruri minerale (aproximativ 1%) și diverse substanțe organice (aproximativ 9%): proteine, lipide, glucide sau combinații ale acestora etc. Plasma servește ca vehicul atât pentru elementele celulare sanguine, cât și pentru diversele substanțe biologice active (hormoni, anticorpi, factori ai coagulării etc.). Volumul plasmatic reprezintă 4-5% din greutatea corpului, adică 41 ml/kg corp, ceea ce pentru un adult de 70 kg înseamnă aproximativ 3500 ml.

Obținerea plasmei. Plasma sanguină se obține prin centrifugarea sângelui proaspăt recoltat pe un anticoagulant până la apariția a două fracțiuni distincte: **sedimentul**, format din elementele figurate și **supernatantul**, care reprezintă plasma sanguină (figura 1.2.).

Serul sanguin se obține prin centrifugarea energetică a sângelui recoltat fără anticoagulant sau prin decantare, după ce sângele integral a fost lăsat să coaguleze la temperatura camerei, timp de 30-60 minute (figura 1.3.). După acest timp, se obține o porțiune inferioară - cheagul (conține fibrină și elemente figurate) și supernatantul limpede, care reprezintă serul. Serul are o compoziție asemănătoare cu a plasmei, cu excepția factorilor coagulării – fibrinogen, FII, FV, FVIII, care au fost folosiți pentru formarea coagulului. În plus, serul conține cantități mari de serotonină rezultată din degranularea trombocitelor în procesul coagulării.

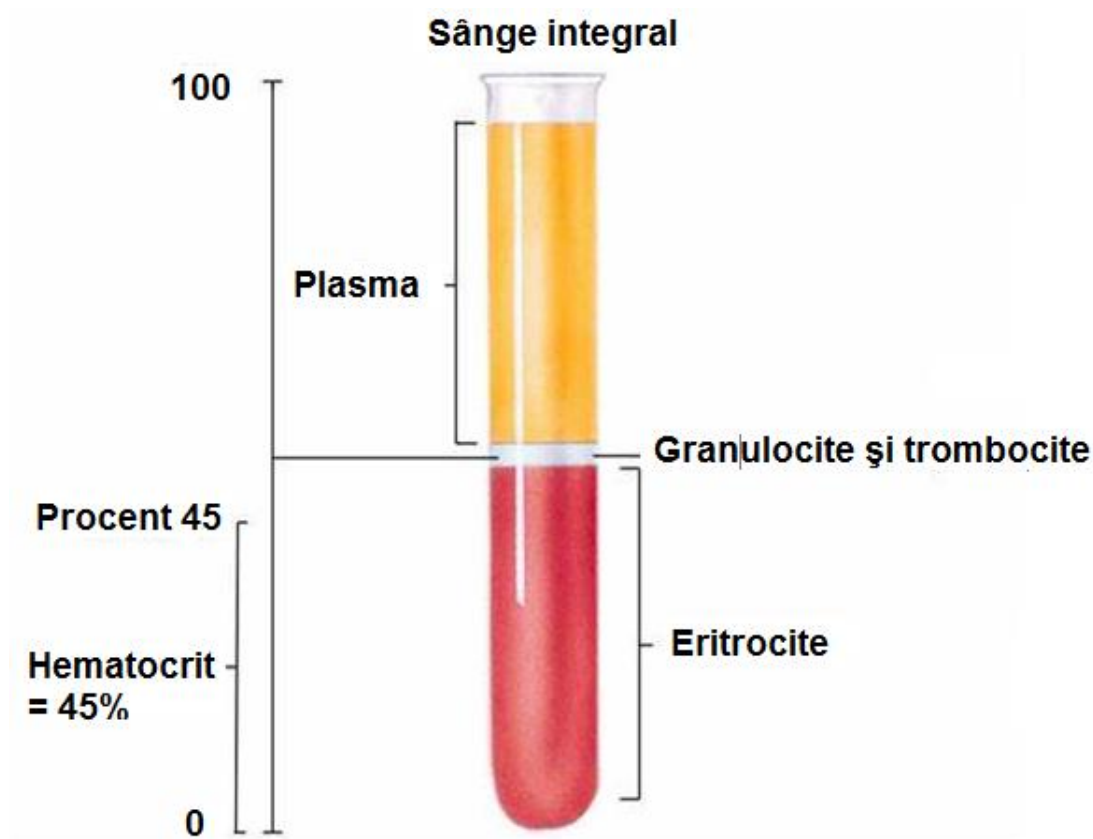
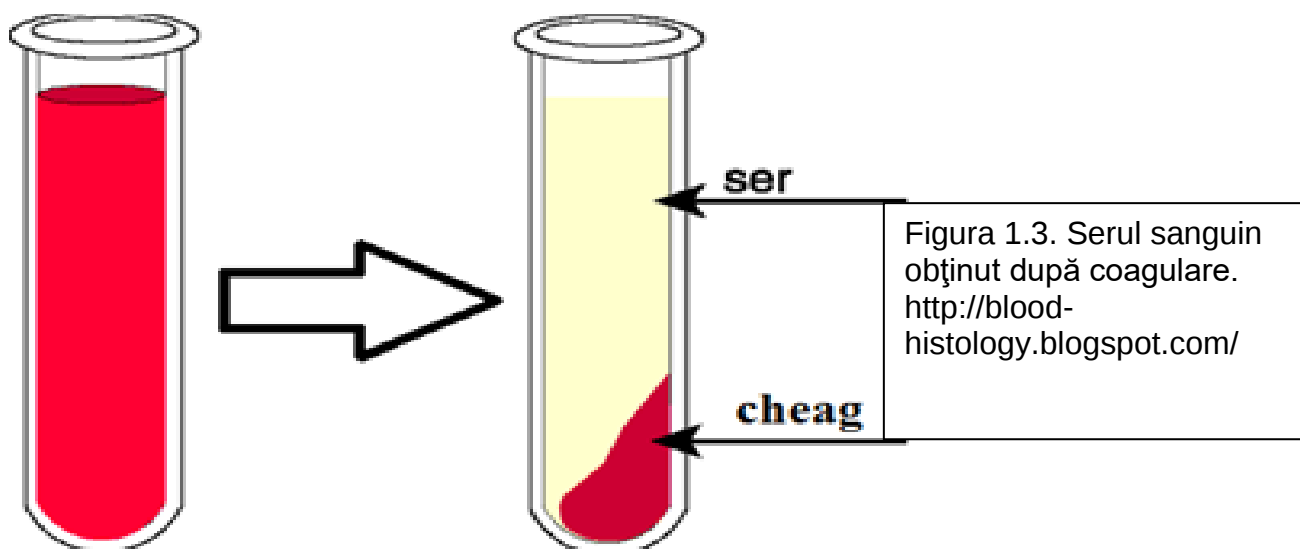


Figura 1.2. Plasma sanguină obținută după centrifugarea sângelui.
<http://blood-histology.blogspot.com/>



Plasma și serul au aceeași compoziție, cu excepția fibrinogenului și a altor factori ai coagulării pe care serul nu-i mai conține, deoarece s-au consumat în procesul de coagulare.

Proprietățile fizico-chimice ale plasmei

Culoarea - plasma este un lichid clar sau ușor gălbui.

Densitatea este conferită mai ales de proteine. Valorile normale variază între 1024-1030 kg/m³. În plasma deproteinizată, densitatea se reduce la 1006. Densitatea sângelui integral depinde atât de concentrația proteinelor, cât și de numărul elementelor figurate.

Presiunea osmotică - presiunea osmotică este presiunea care apare între două soluții cu compoziție diferită, separate printr-o membrană semipermeabilă. Aceasta permite trecerea solventului și nu permite trecerea substanțelor dizolvate (figura 1.4.). Presiunea osmotică depinde exclusiv de numărul particulelor cristaline dizolvate în plasmă, fiind dată în proporție de 80% de NaCl. Valoarea presiunii osmotice este practic aceeași în sânge, plasmă, lichid extracelular și mediul intracelular, fiind un factor de bază al homeostaziei organismului. Presiunea osmotică determină sensul și intensitatea transferurilor de lichide prin membrane. Apa trece din mediul cu presiune osmotică mică (hipoton), spre cel cu presiune osmotică mai mare (hiperton), până la egalizarea presiunilor și diluarea mediului concentrat.

Valori normale: 280-310 mOsm/l; 7,6 – 8,1 atm.; 5300 mmHg; 660 - 770 kPa sau, exprimată sub formă de temperatură de îngheț (= punct crioscopic), valoarea este de: - 0,56 ... -0,58°C.



O soluție cu osmolaritate egală cu a plasmei se numește izotonică (ex. NaCl 0,9%), cea cu osmolaritate mai mică hipotonă, iar cea cu osmolaritate mai mare hipertonă.

Presiunea coloid-osmotică sau oncotică este atribuită proteinelor plasmatiche. Efectele acestei presiuni sunt de a menține apa și electroliții în vase și de a influența activ schimburile hidro-electrolitice la nivel de capilar, atât la nivelul capilarelor din circulația sistemică, cât și a capilarelor renale. Valori normale: 25 mmHg.

Reacția sângelui (și plasmei) - dată de concentrația ionilor de H⁺. Valori normale: 7,38 - 7,42. pH-ul sanguin este unul dintre parametrii care caracterizează constanța mediului

intern, menținerea lui în limite normale realizându-se prin **mecanisme biologice** (aparatele: respirator, renal; ficatul; pielea) **și mecanisme chimice** (sistemele tampon).

Presiunea osmotica - demonstratie

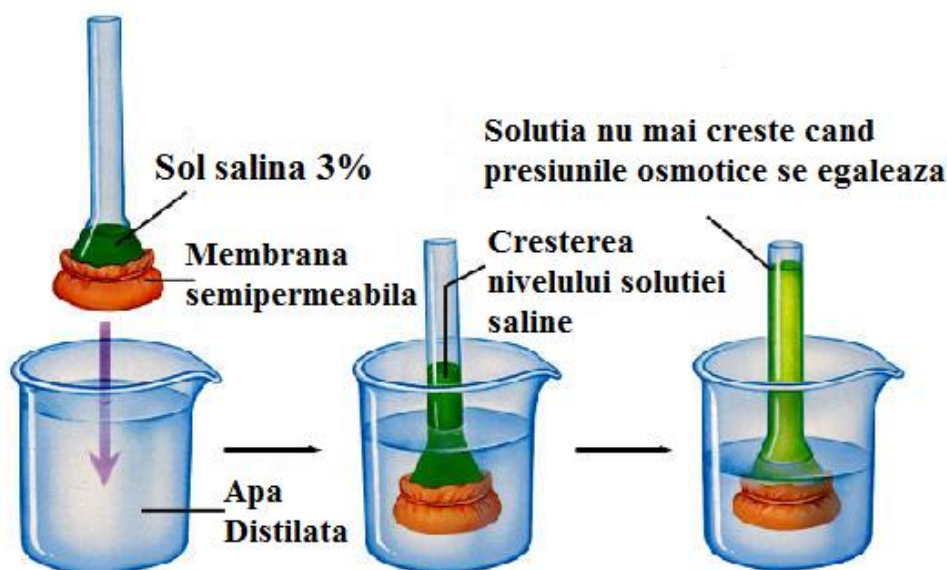


Figura 1.4.

Lucrări practice efectuate în laborator.

Determinarea densității sângelui și plasmei - Metoda Phillips - Van Slyke

Principiul determinării. Determinarea densității sângelui sau plasmei se face comparativ, față de o serie de soluții de sulfat de cupru ale căror densități ne sunt cunoscute. Picătura de plasmă sau sânge se acoperă cu o peliculă de proteinat de cupru care-i permite plutirea, pentru câteva secunde, în interiorul lichidului, în momentul când densitățile celor două lichide sunt egale.

Materiale necesare.

- sânge și plasmă;
- flacoane cu soluții de sulfat de cupru cu densități diferite;
- pipete.

Tehnica de lucru.

Se iau dopurile de la flacoanele cu sulfat de cupru și se lasă câțva timp la temperatura camerei. Din eprubeta cu sânge integral, se iau 2 ml cu o pipetă și se lasă să cadă în fiecare flacon câte o picătură de sânge de la o înălțime de maximum 1cm de la suprafața lichidului.

Pot exista trei situații:

- picătura de sânge se ridică la suprafața lichidului, ceea ce înseamnă că densitatea picăturii e mai mică decât densitatea soluției;
- picătura de sânge coboară spre partea inferioară a flaconului, fiind, deci, cu densitate mai mare decât a soluției din flacon;
- picătura de sânge plutește în interiorul soluției timp de câteva secunde până la ½ min, deci densitatea sângelui este aceeași cu densitatea soluției din flaconul respectiv.

La fel se procedează și pentru determinarea densității plasmei. Seria de soluții de sulfat de cupru cu densități cunoscute poate fi folosită la mai multe determinări (după un timp, atât picăturile de plasmă cât și cele de sânge integral se vor strânge în partea inferioară a flacoanelor). În general, soluțiile se vor schimba când depozitul de sânge sau plasmă depășește 1/4 din volumul total al soluției.

Rezultate. Prin această metodă, obținem două valori: densitatea sângelui integral (DS) și densitatea plasmei (DP).

R.A. Phillips și Van Slyke au construit o nomogramă cu ajutorul căreia, cunoscând densitatea unei probe de sânge și a plasmei, se pot obține valorile hematocritului (Ht) în %, a hemoglobinei (Hb) în g% și a proteinelor totale din plasmă în g% (vezi nomograma, figura 1.5.). Metoda permite determinarea proteinemiei și a Hb cu erori foarte mici.

Valori de referință (kg/m^3):

- Plasmă: 1027 cu limite între 1024-1030.
- Sânge integral: 1055-1067 -bărbați; 1051-1061 -femei;

Variațiile densității plasmei și sângelui

- Creșteri fiziologice:
 - la altitudine, prin splenoconstracție, crește numărul de eritrocite;
 - în efort, prin același mecanism;
 - în deshidratări, prin transpirație.
- Creșteri patologice:
 - deshidratări - prin diaree, vomă, arsuri - se pierde apă;
 - poliglobulii primare sau secundare;
 - șoc - în care se produce o concentrare a eritrocitelor, ca urmare a creșterii permeabilității capilare și trecerii lichidului circulant în interstiții.
- Scăderi fiziologice:
 - la gravide, prin creșterea fracțiunii plasmatică, ca urmare a atragerii apei în vas, sub acțiunea progesteronului și a estrogenilor;
 - ingerare masivă de lichide.
- Scăderi patologice:
 - anemii;
 - posthemoragie, la câteva ore de la producerea acesteia, când lichidul interstițial este atras în vase, pentru compensarea pierderii de volum și menținerea presiunii arteriale.

Importanța determinării.

- determinarea densității sângelui integral și a plasmei permit aprecierea rapidă, prin nomograme, a hematocritului, a cantității de Hb și a concentrației proteinelor plasmatică;
- metoda Van Slyke permite diagnosticul de **șoc postoperator**, **șoc datorat arsurilor întinse** și **șoc posthemoragic**. De asemenea, ajută la stadializarea șocului și orientarea tratamentului în șoc, anemii, deshidratări etc.



Studiu individual

1. Consultând un dicționar medical, definiți următorii termeni: hormon, anticoagulant, ser, fibrinogen, coagulare, hematocrit, sistem tampon.
2. Consultând un tratat medical, determinați situațiile patologice în care presiunile osmotice și coloid-osmotice intervin în patologia umană.
3. Consultând un tratat medical, determinați situațiile patologice în care există modificări ale pH-ului sanguin.

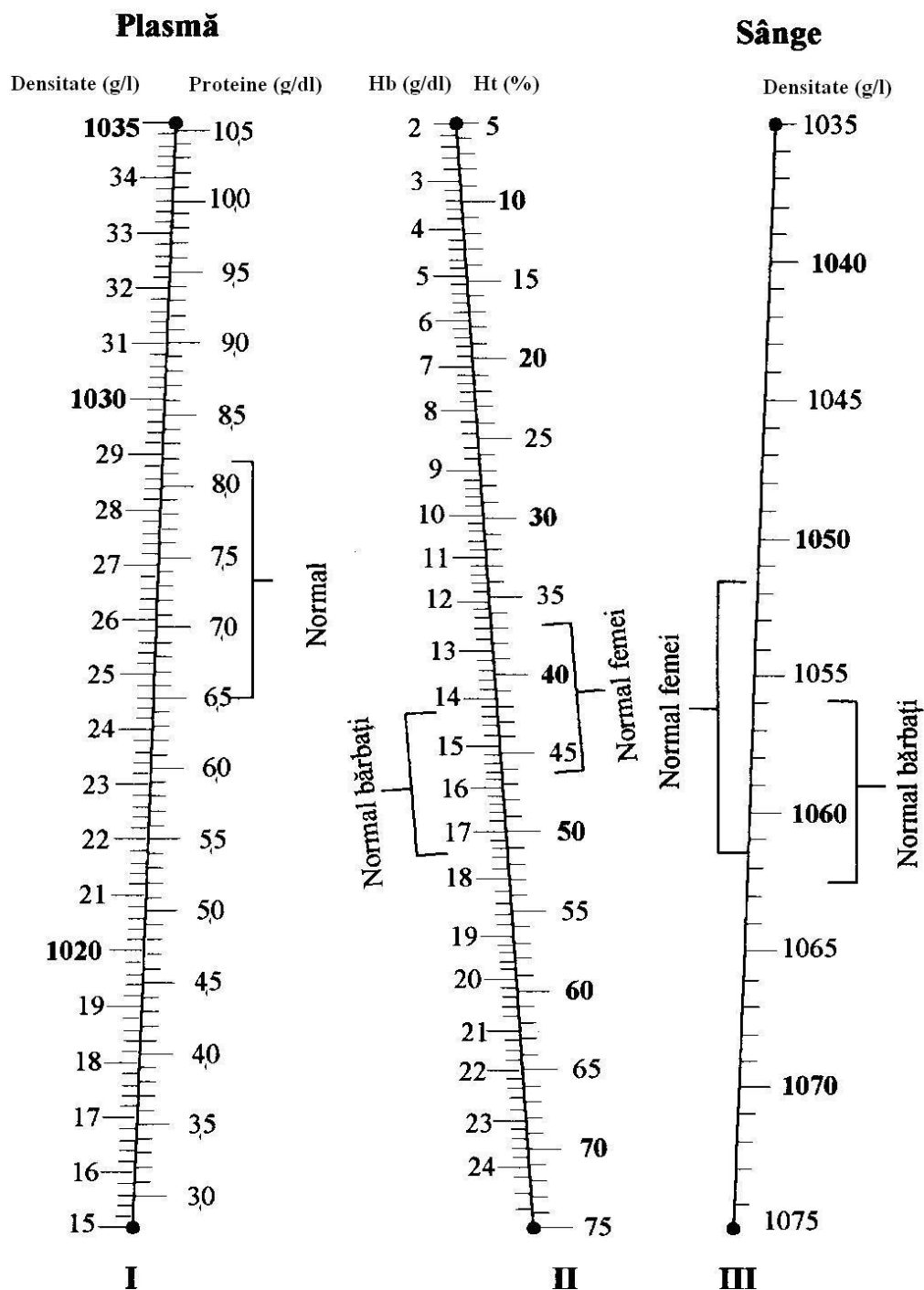


Figura 1.5. Graficul Van Slyke și colab. (Hb - hemoglobină; Ht - hematocrit)
Punctul în care linia care unește scala I cu scala a III-a și intersectează scala a II-a, arată
valoarea hemoglobinei și hematocritului

FIȘĂ DE LUCRU ÎN LABORATOR

1. Notați valorile obținute pentru densitatea plasmei și a sângelui integral.

.....

2. Identificați parametrii de care depinde densitatea sângelui integral.

.....

3. Identificați parametrii de care depinde densitatea plasmei.

.....

4. Indicați cum poate fi densitatea sângelui la o gravidă, în ultimul trimestru de sarcină. Cum numiți situația respectivă și de ce apare la gravide?

.....

5. Care este importanța clinică a determinării densității sângelui și a plasmei?

.....

6. Notați valorile corecte pentru presiunea osmotică.

.....

7. Notați valorile corecte pentru presiunea oncotică.

.....

8. Notați valorile corecte pentru pH-ul sanguin.

.....

9. Calculați volumul plasmatic aproximativ existent în corpul dumneavoastră.

.....

10. Analizați densitățile plasmei la două persoane care au valori diferite ale proteinemiei, de exemplu 5 g/dl și 7,5 g/dl.

.....

1.5. DETERMINAREA VOLUMULUI SANGUIN

Definiție. Volumul sanguin total este cantitatea totală a sângelui circulant care ocupă, la un moment dat, toate compartimentele aparatului cardiovascular (cavitățile cordului, artere, vene, capilare) și organele care depozitează sângele (ficat, splină, plexuri subpapilare).

$$\text{Volumul sanguin total} = \text{Volumul plasmatic} + \text{Volumul hematiilor}$$

Metode de determinare

Metode directe. Exanghinare experimentală la animale – metodă preconizată de Welcker. Metoda constă în recoltarea întregii cantități de sânge, urmată apoi de spălarea întregului arbore circulator cu soluție izotonică. Se dozează apoi colorimetric cantitatea de Hb din lichidul de spălare și din sânge, permițând astfel calcularea cantității totale de sânge.

Metode indirecte.

- **Metoda diluției.** Această metodă se bazează pe principiul **diluției**. Se introduc în sânge substanțe marker, în cantitate cunoscută; se așteaptă omogenizarea lor în sânge și se recoltează o probă de sânge marcat, în care se determină concentrația substanței marker. Substanța marker fie se diluează în plasmă, fie se fixează pe hematii. Dacă într-un volum V se dizolvă o cantitate Q , concentrația C , a ei, este:

$$C = \frac{Q}{V}$$

Aceste substanțe și metode sunt prezentate în tabelul 1.1.

- **Ecuatii și nomograme** în care valorile normale ale volumului de sânge sunt calculate în funcție de: vârstă, sex, greutate, talie.
- **Relația** dintre volumul de sânge, volumul plasmei și hematocrit este:

$$\text{Volum sânge} = \frac{\text{Volum plasmă}}{1 - \text{Hematocrit}}$$

Determinarea volumului plasmatic prin metoda cu colorant Albastru Evans

Principiul: Se injectează intravenos o cantitate mică (cunoscută) de soluție albastru Evans 0,5%, cantitate care, practic, nu se modifică în cursul investigației, deoarece nu difuzează în țesuturi și se elimină foarte lent. Cunoscând concentrația ei în plasmă, după ce s-a omogenizat în tot sângele, înainte de a începe să fie eliminată, se poate afla volumul plasmei în care s-a diluat substanța respectivă.

Materiale necesare:

- anticoagulant: amestec Wintrobe sau heparină;
- albastru Evans 0,5% în apă distilată sterilă, conservat la întuneric și temperatură scăzută.

Condiții de determinare a volumului plasmatic. Subiectul este supus în prealabil unei diete fără grăsimi, timp de 24 de ore înaintea probei, pentru a evita o eventuală lipemie crescută care modifică rezultatele fotometrice.

Cu 12 ore înainte de probă, subiectul nu se alimentează și nu bea lichide. De asemenea, va sta în repaus pe tot acest interval și în timpul determinării experimentale și i se va asigura o stare de echilibru termic. Cantitatea de colorant să nu satureze complet albumina plasmatică (1 ml colorant la 30 ml albumină).

Tehnica de lucru. Se determină în prealabil o curbă de etalonare, folosind o scară de diluții a colorantului albastru Evans 0,5% în plasmă umană proaspătă recoltată pe anticoagulant. Se folosesc diluțiile: 0,002 mg/ml; 0,004 mg/ml; 0,006 mg/ml; 0,008 mg/ml; 0,01 mg/ml și se citesc aceste diluții la spectrofotometru la lungimea de undă $\lambda=640\text{nm}$.

Se reprezintă grafic astfel încât pe abscisă să avem concentrațiile de soluție Albastru Evans, iar pe ordonată corespunzător acestora, extincția lor, trasându-se astfel o curbă (vezi figura 1.6).

Tabelul 1.1. Substanțe și metode utilizate pentru determinarea volumului sanguin			
I	Substanțe folosite pentru determinarea volumului plasmatic	Coloranți	- Albastru Evans (T 1824) - Roșu de Congo - Roșu de Chicago - Albastru Geigy
		Izotopi radioactivi	- RISA cu I^{131} sau cu I^{123}
		Substanțe macromoleculare	- Polivinil – pirolidon - Dextran
II	Substanțe folosite pentru determinarea volumului hematiilor	CO	
		Izotopi radioactivi	- Fe^{55} , Fe^{59} - Cr^{51} - P^{32} - K^{42}
III	Determinarea volumului sanguin total	Metode fizice	- Constau în determinarea impedanței electrice înainte și după injectarea unei substanțe rău conducătoare de electricitate, care crește impedanța.
		Metoda dublei mărcări	- Marcarea simultană a plasmei cu RISA și a hematiilor cu Cr^{51} .

Înainte de administrarea substanței marker se recoltează pacientului 10 ml sânge pe anticoagulant și se centrifughează pentru obținerea hematocritului, iar supernatantul se centrifughează într-o altă eprubetă, pentru a obține plasma martor. Pe același ac se injectează 3 ml colorant 0,5%. La sfârșitul injectării se aspiră în seringă sânge și se reinjectează cu scopul de a spăla seringă. La 3 minute din momentul în care s-a injectat tot colorantul, se recoltează prima probă de sânge, 10 ml pe anticoagulant, de la celălalt braț. Se centrifughează. Se citește la spectrofotometru densitatea optică (extincția) a plasmei colorate, folosind pentru cuva de compensație sau plasma martor, plasma obținută prin recoltarea sângelui înainte de injectarea colorantului. Din extincția citită, se poate afla pe curba de etalonare concentrația substanței în sânge. Se recomandă citirea la fotometru imediat după centrifugare întrucât densitatea optică a plasmei colorate scade rapid.

Tehnica experimentală de determinare a volumului plasmatic cu Albastru Evans

- Se cântărește animalul de experiență (câine).
- Se fixează pe o masă de contenție în decubit dorsal, legându-i-se membrele. Se face anestezie generală cu cloraloză 1% (1 ml/kg corp) inj. i.v., după care se incizează și se descoperă vena femurală de la plica inghinală de la ambele membre.

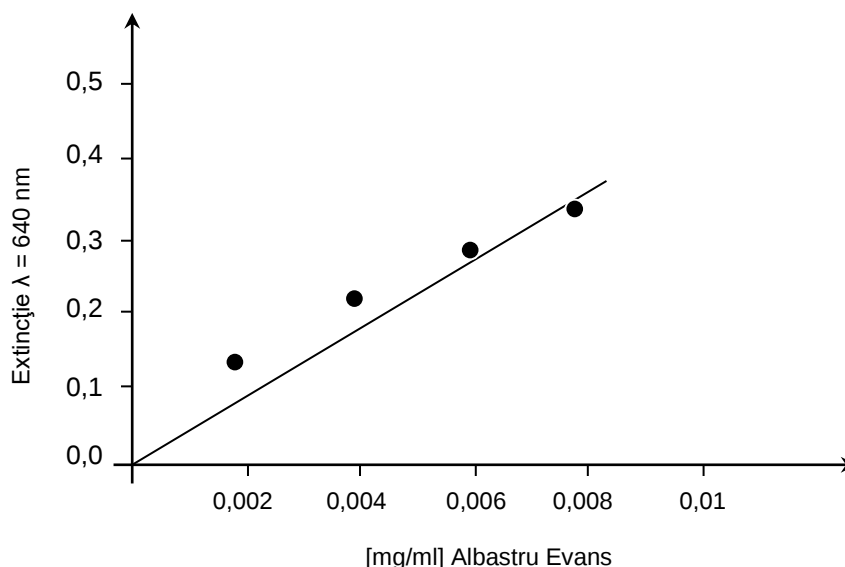


Figura 1.6. Curba de etalonare pentru determinarea volumului plasmatic prin metoda albastru Evans.

- Se prelevează proba martor de sânge prin puncție pe vena femurală în care s-a introdus un cateter adaptabil la o seringă. Se centrifughează sângele recoltat pentru aflarea hematocritului și pentru a avea plasma normală, martor.
- Se injectează prin cateter o soluție de ser fiziologic heparinat pentru a preveni coagularea sângelui în vas, în cursul experimentului.
- Se injectează rapid colorantul intravenos pe cateter, sol. 0,5% în cantitate de 0,1–0,2 mg/kg.
- Se recoltează probe de sânge de pe cateter, de la vena femurală a celuilalt membru la 5, 10 și 15 minute și se citesc extincțiile lor la spectrofotometru în $\lambda = 640$ nm. Se plasează valorile extincțiilor de la 5, 10 și 15 minute pe un grafic pe care, punctat, aducem curba acestor concentrații la zero (practic, ar coincide cu momentul injectării, când colorantul are cea mai mare concentrație în sânge).
- Se citește extincția probei martor (cuva de compensație) înainte de injectarea colorantului.
- Pentru a afla concentrația probei martor și a probei de cercetare folosim curba de etalonare, făcută în prealabil, la care pentru fiecare extincție corespunde o anumită concentrație. Se determină volumul plasmatic cu ajutorul raportului:

$$VP = \frac{\text{Concentrația probei standard}}{\text{Concentrația probei de cercetat}}$$

- Pentru calcularea volumului sanguin total VS folosim relația:

$$VS = \frac{VP}{100 - 0.87Ht} \times 100$$

Valori normale și variații patologice ale volemiei

Valorile normale și variațiile patologice sunt redată în tabelele 1.2. și 1.3.

Tabelul 1.2. Valori normale și variații fiziologice ale volumului sanguin			
	Bărbați	Femei	
Valori normale 4-5 l de sânge în total	- 76 ml/kgc - 3000 ml/m² - 1/12 din greutatea corpului	- 66 ml/kgc - 2500 ml/m² - 1/15 din greutatea corpului	- 6-8% din greutatea corpului
Variații fiziologice	Vârstă	- nou-născut: 88 ml/kgc; - scade spre adolescență: 70 ml/kgc; - după pubertate este mai mare la bărbat; - scade la vârstă înaintată;	
	Greutatea corpului	- la obezi volumul sanguin este mai mic; - volumul sanguin este proporțional cu masa musculară a individului;	
	Poziția corpului	- volum scăzut în ortostatism, cu 300 ml; după 30 min. volumul scade cu 15% față de decubit; - volum crescut în clinostatism; în repaus patologic prelungit scade cu 500 ml;	
	Graviditatea	- în sarcină, volumul crește cu 30-50%, începând din luna a III-a și este maxim în luna a IX-a, interesând volumul plasmatic;	
	Anotimp	- primăvara, vara – volumul sanguin crește cu 15-20% (în legătură cu termoreglarea); - toamna, iarna – volumul sanguin scade;	
	Presiunea barometrică	- scăderea presiunii atmosferice crește volumul de sânge pe seama volumului globular (la altitudine);	
	Activitatea fizică	- crește în efort la sportivi, prin creșterea masei corporale active și mobilizarea sângelui din rezervoare.	

Tabelul 1.3. Variații patologice ale volumului de sânge

NORMOVOLEMIE <i>Volum normal de sânge</i>	normocitemică Ht = 45%	- situație fiziologică
	oligocitemică Ht < 35%	- sindrom posthemoragic faza II
	policitemică Ht > 58%	- leucemie
HIPERVOLEMIE <i>Volum crescut de sânge</i>	normocitemică Ht = 45%	- hipertensiune arterială - stări postransfuzie cu sânge integral - hipertiroidism
	oligocitemică Ht < 35%	- ciroze hepatice - nefrite
	policitemică Ht > 58%	- boala Vaquez - leucemii
HIPOVOLEMIE <i>Volum scăzut de sânge</i>	normocitemică Ht = 45%	- hemoragie – faza acută - mixedem - obezitate
	oligocitemică Ht < 35%	- anemii toxice grave - cașexie - T B C - anemii pernicioase
	policitemică Ht > 58%	- deshidratări masive - șoc - arsuri - transpirații excesive - diaree - vărsături



Studiu individual

Consultând cursul „Fiziologia sângelui” și materialele recomandate în bibliografie, răspundeți la următoarele cerințe:

1. Definiți următorii termeni: hipovolemie, hipervolemie, oligocitemie, policitemie, substanță marker.
2. Comentați utilitatea metodelor de determinare a volumului sanguin în practica medicală.

FIȘĂ DE LUCRU ÎN LABORATOR

1. Enumerați componentele volumului sanguin total.

.....

2. Care sunt valorile normale ale volumului de sânge ?

.....

.

3. Enumerați factorii fiziologici care produc modificări ale volumului de sânge.

.....

.

4. Explicați modificările volumului de sânge asociate vârstei, gravidității, efortului fizic.

.....

5. Explicați modalitatea prin care hematocritul influențează vâscozitatea sângelui în normovolemii, hipovolemii și hipervolemii.

.....

6. Completați valorile corespunzătoare hematocritului în tabelul următor:

NORMOVOLÉMIE <i>Volum normal de sânge</i>	normocitemică
	Ht =.....
	oligocitemică
	Ht <.....
HIPERVOLEMIE <i>Volum crescut de sânge</i>	policitemică
	Ht >.....
	normocitemică
	Ht =.....
HIPOVOLEMIE <i>Volum scăzut de sânge</i>	oligocitemică
	Ht <.....
	policitemică
	Ht >.....