

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TERAMO
CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA VETERINARIA

IV ANNO

C.I. “DIAGNOSTICA PER IMMAGINI E DI LABORATORIO” (7 CFU)

MODULO: BASI DI DIAGNOSTICA DI LABORATORIO VETERINARIA
2 CFU - 14 ORE

(11 ORE DI LEZIONE FRONTALE E 3 ORE DI LEZIONE PRATICA)
DOCENTE: ROBERTO GIACOMINELLI STUFFLER

OBIETTIVI DEL MODULO

Si descrivono le caratteristiche distintive di un laboratorio di diagnostica ed il suo controllo di qualità e si analizzano le principali tecniche di biochimica clinica e di biologia molecolare clinica. La biochimica clinica e la biologia molecolare clinica studiano il singolo soggetto malato per raccogliere dati che abbiano valore di prove semeiologiche a favore o contrarie alla diagnosi formulata dal clinico.

PRIMA LEZIONE (2 ORE DI LEZIONE FRONTALE)

ARGOMENTO: IL LABORATORIO DI DIAGNOSTICA

Obiettivi della lezione. Le modalità di raccolta e conservazione dei materiali biologici dopo l'effettuazione del prelievo. Le possibili cause di variazioni pre-analitiche. La temperatura di conservazione dei campioni biologici. La variabilità analitica. La classificazione degli errori di misura. I limiti accettabili di errore.

SECONDA LEZIONE (1 ORA DI LEZIONE FRONTALE)

ARGOMENTO: IL CONTROLLO DI QUALITÀ

Obiettivi della lezione. Il controllo dei metodi impiegati in un laboratorio di diagnostica e la loro classificazione in base all'accuratezza. L'aumento della specificità di un metodo. La sicurezza della qualità nel laboratorio. Le carte di controllo della media. Il metodo della somma cumulativa. Il controllo di qualità esterno. La variabilità biologica ed i valori di riferimento. I fattori che influenzano i valori di riferimento. La presentazione dei valori di riferimento. La logica diagnostica.

TERZA LEZIONE (2 ORE DI LEZIONE FRONTALE)

ARGOMENTO: LA BIOCHIMICA CLINICA (PRIMA PARTE)

Obiettivi della lezione. Le misure spettrofotometriche. Lo spettrofotometro. Le curve standard. La retta di taratura. I metodi fotometrici. I metodi immunochimici. Gli immunodosaggi competitivi (RIA), i dosaggi immunometrici (IRMA, sandwich-ELISA), i dosaggi di immunoassorbimento con enzimi (ELISA diretto ed indiretto). Gli enzimi e la diagnostica clinica. I metodi di misura dell'attività enzimatica nei fluidi biologici. Il sistema di misura a due punti ed in continuo. Il test ottico semplice e con indicatore.

QUARTA LEZIONE (2 ORE DI LEZIONE FRONTALE)

ARGOMENTO: LA BIOCHIMICA CLINICA (SECONDA PARTE)

Obiettivi della lezione. La proteomica applicata alla diagnostica. L'elettroforesi delle proteine. Il gel di poliacrilammide. La mobilità elettroforetica. L'SDS-PAGE. I metodi di colorazione delle proteine. Il principio del Western Blotting. La isoelettrofocalizzazione (IEF). L'elettroforesi bidimensionale su gel. L'espressione proteica differenziale. L'analisi dell'immagine. L'identificazione di una proteina. Il principio della spettrometria di massa. Il principio e gli usi della MALDI-TOF. L'analisi del profilo dell'espressione proteica. La proteomica Multiplexed (MP).

QUINTA LEZIONE (2 ORE DI LEZIONE FRONTALE)

ARGOMENTO: LA BIOLOGIA MOLECOLARE CLINICA (PRIMA PARTE)

Obiettivi della lezione. Gli enzimi di restrizione. Le tecniche per la diagnosi molecolare. La reazione della PCR (polymerase chain reaction) nella diagnostica clinica. I materiali e gli strumenti necessari per l'effettuazione della PCR. La Taq polimerasi. Il principio della PCR, la sua natura esponenziale, le sue applicazioni. La RT-PCR (Reverse transcriptase-polymerase chain reaction). La Real-Time PCR. Il SYBR Green.

SESTA LEZIONE (2 ORE DI LEZIONE FRONTALE)

ARGOMENTO: LA BIOLOGIA MOLECOLARE CLINICA (SECONDA PARTE)

Obiettivi della lezione. Le sonde specifiche marcate con fluorocromi. Le sonde fluorogeniche TaqMan. Le sonde fluorogeniche Quanti Probe. Le sonde FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer). Le sonde fluorogeniche Molecular Beacons. La strumentazione della Real-Time PCR. L'interpretazione dei risultati. Le applicazioni della PCR quantitativa. La quantificazione relativa ed assoluta. La prevenzione da contaminazioni in un laboratorio di biologia molecolare.

SETTIMA LEZIONE (3 ORE DI LEZIONE PRATICA)

ARGOMENTO: STIMA DEL GLUCOSIO NEL SIERO

Obiettivi della lezione. La determinazione del glucosio è importante principalmente nella determinazione del diabete mellito nel quale i livelli di glucosio nel sangue sono elevati. Altre malattie quali ipertiroidismo, iperipituitarismo, nefriti severe, pancreatiti, asfissia, anestesia, pneumonia, deidratazione ed alcuni particolari disordini epatici conducono ugualmente all'iperglicemia. L'obiettivo è quello di fornire allo studente informazioni utili sulla diagnosi di laboratorio basata su studi di laboratorio quali l'esame di campioni clinici come sangue, feci e urine. Tali analisi vengono effettuate mediante tecniche biochimiche.

Modalità di accertamento della preparazione

L'esame verterà su una prova scritta o orale, a scelta dello studente.

Il docente riceve gli studenti il martedì dalle ore 14.30 alle ore 16.30.

Materiale didattico e di studio di riferimento.

-Metodologie di base per la biochimica e la biotecnologia, A.J. Ninfa, D.P. Ballou, Ed. Zanichelli (2008);

-Biotecnologia molecolare, R.G. Glick, J.J. Pasternak, Ed. Zanichelli (1999);

-Slide e appunti delle lezioni.