



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI "FEDERICO II"

Scuola di Medicina e Chirurgia

C.d.S. in "Tecniche di Laboratorio Biomedico"

Coordinatore Prof.ssa Franca Esposito

Programma di tirocinio C.d.S. in Tecniche di Laboratorio Biomedico "Policlinico Federico II - Napoli"

I anno I semestre: 100 ore

II piano ed.4 -Laboratorio generale di base:

- Norme di sicurezza – rischio chimico. - Rischio clinico.
- Utilizzo vetreria di laboratorio - Produzione H₂O, utilizzo distillatore e deionizzatore, controllo purezza H₂O.
- Bilancia tecnica e analitica - pesate - Taratura bilance.
- Sistemi di misura volumetrica, Tarature pipette semiautomatiche.
- Termometri min.max. e a registrazione continua – controllo temperatura di frigoriferi congelatori e termostati.
- Miscele, soluzioni, solventi, soluti - Preparazione soluzioni.
- pHmetri - Preparazione soluzioni tampone – Diluizioni.
- Centrifughe, centrifugazione campioni di sangue – contenitori, provette e disposable dedicati ai prelievi di sangue e altri liquidi fisiologici.
- Microscopio ottico – conta in camera di burker – preparazione vetrini ematologici - sedimenti urinari.
- Conta leucociti in camera di burker (da sangue EDTA e liquor).
- Reazioni di agglutinazione - reazione antigene/anticorpo con l'utilizzo di particelle sensibilizzate in superficie,
- Colorimetro, Fotometro, Spettrofotometro- Spettro di assorbimento di un analita.
- Analisi spettrofotometrica, curva di calibrazione, interpolazione di valore incognito dell'analita.
- Procedure di calibrazioni, controlli, validazione dei risultati.
- Processo analitico dall'accettazione alla refertazione.
- Accettazione, etichettatura, programmazione, esecuzione analisi,
- Validazione e trasferimento risultati in refertazione.
- Automazione, panoramica laboratorio di analisi cliniche.

I anno II semestre: 250ore

III piano edificio 20 -Anatomia Patologica:

- Accettazione campioni istologici .
- Osservazione in sala macroscopica e descrizione macro.
- Processazione ed inclusione pezzi anatomici.
- Allestimento sezioni al microtomo e colorazione.
- Allestimento sezioni al criostato durante estemporanea.
- Laboratorio di immunoistochimica ed istochimica.
- Allestimento sezioni al criostato durante estemporanea.
- Laboratorio di immunoistochimica ed istochimica.

Piano terra edificio 4 -Routine Biochimica:

- Accettazione ed etichettatura campioni biologici, verifica non conformità, centrifugazione, percorso analisi di routine su analizzatore MODULAR della ditta ROCHE dalla programmazione alla validazione dei risultati, ripetizioni e diluizioni di risultati con allarmi.
- Calibrazioni e QC in chimica clinica (precisione e accuratezza), VEQ.
- Manutenzione ordinaria dell'analizzatore Modular (quotidiana, settimanale, Mensile).
- Analisi di alcuni analiti sulle urine (urea, ac. urico, proteine, glucosio, Na⁺, Cl⁻, K⁺, P, calcolo della clearance Clearance).

III piano edificio 4 -Indagini Urinarie:

- Analisi delle urine in manuale e in automatico, lettura strisce.
- Centrifugazione e lettura sedimento, citofluorimetria di campioni di urine.
- Proteine urinarie.
- Osmolarità sierica e urinaria.
-

piano terra edificio 3 -Ambulatorio:

- Norme di sicurezza, approccio al sistema operativo “Diamante”.
- Nomenclatore tariffario in vigore adottato dalla Regione Campania.
- Accettazione impegnativa, privacy e consenso trattamento dati sensibili, fase pre-analitica e post-analitica.
- Prelievi di sangue e infalettamento in provette con e senza anticoagulanti.
- Prelievi di altri liquidi biologici e Tamponi per esami colturali.
- Norme per prelievi e trasporto dei campioni dal punto prelievi al laboratorio di analisi.
- Prelievi e trasporto speciale per Ammonio, Ac.Lattico, Emogas, vitamine e altri analiti fotosensibili e/o facilmente degradabili.
- Prelievi in curve da carico, trattamento, conservazione e trasporto.
- Velocità di eritrosedimentazione (VES).

II piano edificio 4 -Analisi Urgenti:

- Accettazione e programmazione campioni con richieste di analisi urgenti, centrifugazione campioni, verifica delle non conformità.
- Nomenclatore degli analiti richiesti in urgenza.
- Dosaggio di analiti che rivestono carattere di urgenza su Beckman LX-20, Marcatori di danno miocardico in Elettrochemiluminescenza (Myoglobina, CK-MB-massa, Troponina I su Beckman Access-2).
- Analisi di campioni biologici che necessitano di particolari accorgimenti preanalitici :Emogasanalisi, Ammonio, Ac. Lattico.
- Analisi del liquor : dosaggio delle Microproteine, del glucosio e conta cellule in camera di Buerker.
- Emostasi e coagulazione in urgenza.
- Ematologia in urgenza.
- Q.C. (precisione, accuratezza, VEQ).
- Pool di sieri per la correlazione dei risultati ottenuti su due diversi analizzatori (Modular-Roche e Beckman LX-20), analisi della regressione lineare, intercetta e coefficiente angolare, impostazione delle coordinate (slope e offset) sull’analizzatore correlato (LX-20 Beckman), verifica dei valori correlati.

II anno I semestre:275 ore

Igiene Generale: Edificio 19 I piano –

- Le principali metodiche di disinfezione e sterilizzazione.
- Controlli biologici di sterilizzazione.
- Isolamento ed identificazione di microrganismi dalle matrici ambientali.
- Genotipizzazione dei microrganismi responsabili di epidemie nell’ambiente ospedaliero.

Microbiologia : Piastra G.Edificio 9 -

- Accettazione campioni in batteriologia,sierologia e parassitologia.
- Verifica idoneità campioni.
- Preparazione dei terreni di coltura.
- Semina campioni su terreni di coltura.
- Identificazione batterica.
- Colorazione di Gram.
- Allestimento antibiogramma (MIC e Kyrbi bauer).
- TAS, PCR, R. Test in nefelometria.
- Reazioni di agglutinazione (TPHA-RPR-VIDAL WRIGHT).
- Preparazione e allestimento campioni per esami parassitologici.

Tecniche Diagnostiche di Immunoenzimatica – Proteine (Indagini Speciali e Proteine sieriche ed urinarie):

III piano ed.4 -

Descrizione Metodi Immunoenzimatica

- Affiancamento all’esecuzione del dosaggio di anti- tTGA/TGG.
- Affiancamento all’esecuzione del dosaggio di anti -DGP IgA /IgG.
- Affiancamento all’esecuzione del dosaggio di Calprotectina fecale.
- Affiancamento all’esecuzione del dosaggio del Gastropanel.

Descrizione Metodi Immunofluorescenza

- Affiancamento all’esecuzione del dosaggio di anticorpi antiendomisio EMA.

Descrizione Metodi Elettroforetici: elettroforesi su supporto e capillare

- Affiancamento all’esecuzione dell’elettroforesi degli isoenzimi CK e LDH.
- Affiancamento all’esecuzione dell’elettroforesi capillare delle proteine sieriche.
- Affiancamento all’esecuzione dell’elettroforesi delle proteine urinarie.
- Affiancamento all’esecuzione dell’immunofissazione per la tipizzazione di componenti monoclonali

Descrizione Spettroscopia Assorbimento Atomico (AAS).

- Affiancamento all’esecuzione del dosaggio di oligoelementi

Descrizione Metodo nefelometrico.

- Affiancamento all'esecuzione del dosaggio di proteine specifiche nel siero.
- Affiancamento all'esecuzione del dosaggio di catene Kappa, Lambda ed albumina nelle urine .

Biochimica Clinica: Piano terra edificio 4 -

- La preanalitica in biochimica clinica.
- Materiali e metodi.
- Automazione in Biochimica Clinica.
- Dosaggi colorimetrici.
- Dosaggi di enzimatici-colorimetrici.
- Dosaggi fixed-time.
- Dosaggi degli elettroliti sierici e urinari con potenziometria diretta e indiretta.
- Dosaggi turbidimetrici.

Il anno II semestre:225 ore

IV piano ed.4 -Biologia Molecolare Clinica:

Il tirocinio di Biologia Molecolare Clinica, è svolto dagli studenti del II e III anno del Corso di Laurea in Tecniche di Laboratorio Biomedico, presso i laboratori del Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche. Sono state presentate le principali patologie genetiche e metaboliche la cui diagnosi molecolare è effettuata presso i nostri laboratori. In particolare il tirocinio ha previsto una generale introduzione alle caratteristiche cliniche, biochimiche e molecolari di cardiomiopatia ipertrofica e dilatativa, displasia aritmogena, malattie mitocondriali, dislipidemie, celiachia, forme monogeniche di diabete (MODY e MIDD), acidurie organiche, ammino-acidopatie, difetti di beta ossidazione di acidi grassi. Sono stati inoltre illustrati i principi di Farmacogenetica, relativi alla diagnostica molecolare della terapia anticoagulante. L'individualità biologica, attraverso lo studio di STR, è stata presentata nella diagnostica di chimerismi post trapianto, contaminazione materno fetale, ed indagini di paternità. E' stata preliminarmente mostrata l'organizzazione dei laboratori di Biologia Molecolare Clinica nelle diverse aree di estrazione, amplificazione e analisi post PCR e sono state presentate le differenti strumentazioni utilizzate (Thermo Cycler, cappe chimiche e a flusso laminare, centrifughe, camere elettroforetiche, distillatore, autoclave).

Le principali tecniche utilizzate sono state:

- Estrazione di Acidi Nucleici .
- Quantizzazione spettrofotometrica del DNA estratto.
- Preparazione di soluzioni e gel di agarosio per migrazione elettroforetica del DNA estratto.
- Utilizzo del software (Primer 3) per il disegno di specifici oligonucleotidi.
- Sviluppo di protocolli per amplificazione genica (PCR).
- Preparazione di Mix di PCR e reazione di amplificazione genica.
- Verifica dell'amplificazione per migrazione elettroforetica su gel di agarosio.
- Utilizzo di software (Codon Code, Seqscape) per interpretazione degli elettroferogrammi ottenuti mediante sequenziamento di Sanger.
- Elettroforesi capillare per indagini di tipizzazione individuale.
- E' stata Infine illustrata la stesura di referti di Biologia Molecolare Clinica.

Microbiologia e parassitologia: Piastra G.Edificio 9 -

- Accettazione campioni in batteriologia, sierologia e parassitologia.
- Verifica idoneità campioni.
- Preparazione dei terreni di coltura.
- Semina campioni su terreni di coltura.
- Identificazione batterica.
- Colorazione di Gram.
- Allestimento antibiogramma (MIC e Kyrbi bauer).
- TAS, PCR, R. Test in nefelometria.
- Reazioni di agglutinazione (TPHA-RPR-VIDAL WRIGHT);
- Preparazione e allestimento campioni per esami parassitologici.

Biochimica in Urgenza, Emostasi, Ematologia: II piano ed.4 -

- Spettrofotometri a largo spettro e colorimetri dedicati .
- Spettrofotometria - metodi di determinazione in colorimetria end-point, in colorimetria a due punti, in cinetica, in fixed-time.
- Calcolo della concentrazione di un analita con interpolazione su curva di calibrazione o contro standard.
- Potenzimetria indiretta: dosaggio degli elettroliti.
- Determinazione del glucosio con metodo glucosio-ossidasi e glucosio-ossidasi modificato secondo Clark.
- Dosaggio delle proteine e delle microproteine (con biuretto e con pirogallolo).
- Proteina C reattiva ad alta sensibilità in turbidimetria, correlazione col metodo nefelometrico.
- Conservazione campioni per dosaggi sfera emostasi e trombosi.
- Dosaggi coagulometrici col metodo elettromeccanico e col metodo ottico.

- Dosaggio del fibrinogeno col metodo Claus e Derivato.
- Dosaggio del Tempo di Tromboplastina Parziale .
- Dosaggi dei fattori della coagulazione.
- Esecuzione emocromi, striscio di sangue, fissazione e colorazione vetrini, formula leucocitaria.
- Lettura in camera di Burker di globuli rossi, globuli bianchi, piastrine.
- Autoanalizzatori in uso in ematologia, reagenti e coloranti per gli elementi nucleati .
- Principi di citometria a flusso, side scatter, farward scatter, impedenziometria.
- Interpretazione dei risultati di un emocromo.

Patologia Clinica: Edificio 4 -

- Valutazione dell'appropriatezza delle richieste di dosaggi pervenute dalle cliniche in relazione al sospetto diagnostico ivi descritto;
- Preparazione dei campioni biologici (centrifugazione a freddo, separazione del plasma dalle emazie con l'uso di pipette Gilson a taratura variabile e VistaLab a taratura fissa, check-in dei campioni ecc.);
- Calibrazione degli strumenti analitici ed uso dei controlli di qualità;
- Descrizione metodica "ECLIA" (ImmunoAssay in ElettroChemiLuminescenza) ed uso degli immunoanalizzatori "Modular Analytix E170" nell'area della "Diagnostica Tiroidea" (TSH, FT3, FT4, T3, T4, Tg, AbTg, AbTpo);
- Uso di immunoanalizzatori "Immulate 2000" (stessa metodica di "Modular Analytix E170") nell'area della "Diagnostica Endocrinologica" (FSH, LH, Prg, E2, Dhea-S, PTH, Gh, ecc.) e nell'area della "Diagnostica Oncologica" (Cea, Ca 19-9, Ca 15-3, Ca 125, Afp, Gastrina, ecc.);
- Descrizione ed uso del Sistema Informatico di Laboratorio (L.I.S.) "Diamante" della società "Informatica Medica";
- Valutazione dei risultati dei dosaggi con richiamo alle nozioni teoriche acquisite dai tirocinanti nel corso delle lezioni in aula.

Immunopatologia: Edificio 4 -

- Tecniche ELISA.
- Tecniche di Chemiluminescenza.
- Tecniche IFA.
- Tecniche FEIA.
- ANA, ENAS, ENA Profile, ds DNA.
- ANCA (PR3 MPO).
- CCP.
- LKM-AMA.
- CIC.
- Tecniche diagnostiche dei Marcatori Tumorali.
- Tecniche diagnostiche dei Marcatori della Fertilità.
- Tecniche diagnostiche dei Marcatori Tiroidei.

Centro Trasfusionale - Immunoematologia: Edificio 9 -

Tipizzazioni gruppo-ematiche:

- Determinazione del gruppo ABO.
- Tipizzazione Rh.
- Tipizzazione fenotipo Du.
- Determinazione del Fenotipo Rh.
- Determinazioni altri Sistemi gruppo-ematici.

Indagini Immunoematologiche:

- Test di Coombs Diretto.
- Test di Coombs Indiretto.
- Ricerca anticorpi irregolari.
- Metodica dell'eluato.
- Prove di compatibilità.
- Type and screen.
- Emocomponenti.
- Separazione.
- Preparazione Pool di Piastrine.
- Lavaggio Emazie.
- Irradiazione.

III anno I semestre:300 ore

IV piano ed.4 -Biologia Molecolare Clinica:

Il tirocinio di Biologia Molecolare Clinica, è svolto dagli studenti del II e III anno del Corso di Laurea in Tecniche di Laboratorio Biomedico, presso i laboratori del Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche. Sono state presentate le principali patologie genetiche e metaboliche la cui diagnosi molecolare è effettuata presso i nostri

laboratori. In particolare il tirocinio ha previsto una generale introduzione alle caratteristiche cliniche, biochimiche e molecolari di cardiomiopatia ipertrofica e dilatativa, displasia aritmogena, malattie mitocondriali, dislipidemie, celiachia, forme monogeniche di diabete (MODY e MIDD), acidurie organiche, ammino-acidopatie, difetti di beta ossidazione di acidi grassi. Sono stati inoltre illustrati i principi di Farmacogenetica, relativi alla diagnostica molecolare della terapia anticoagulante. L'individualità biologica, attraverso lo studio di STR, è stata presentata nella diagnostica di chimerismi post trapianto, contaminazione materno fetale, ed indagini di paternità. E' stata preliminarmente mostrata l'organizzazione dei laboratori di Biologia Molecolare Clinica nelle diverse aree di estrazione, amplificazione e analisi post PCR e sono state presentate le differenti strumentazioni utilizzate (Thermo Cycler, cappe chimiche e a flusso laminare, centrifughe, camere elettroforetiche, distillatore, autoclave).

Le principali tecniche utilizzate sono state:

- Estrazione di Acidi Nucleici .
- Quantizzazione spettrofotometrica del DNA estratto.
- Preparazione di soluzioni e gel di agarosio per migrazione elettroforetica del DNA estratto.
- Utilizzo del software (Primer 3) per il disegno di specifici oligonucleotidi.
- Sviluppo di protocolli per amplificazione genica (PCR).
- Preparazione di Mix di PCR e reazione di amplificazione genica.
- Verifica dell'amplificazione per migrazione elettroforetica su gel di agarosio.
- Utilizzo di software (Codon Code, Seqscape) per interpretazione degli elettroferogrammi ottenuti mediante sequenziamento di Sanger.
- Elettroforesi capillare per indagini di tipizzazione individuale.
- E' stata Infine illustrata la stesura di referti di Biologia Molecolare Clinica.

Citopatologia: edificio 20 –

- Accettazione e descrizione del campione citologico.
- Iter del campione citologico: agoaspirati, liquidi di cavità, pap-test, urina e campioni mucosi.
- Allestimento di vetrini citologici: stiscio diretto e citospin.
- Concetto di fissazione e varie modalità fissative (Citologia versus Istologia).
- Colorazioni di base della citologia: Papanicolaou e Diff Quick.
- Teoria su metodiche ancillari: **Immunocitochimica** (routine diagnostica e applicazione in Target Therapy con Ab mutazione-specifica), **Citofluorimetria** (fenotipizzazione di aspirati linfonodali), **analisi mutazionali** (estrazione e sequenziamento diretto).
- Preparazione di campioni citologici per immunocitochimica: metodica manuale con sistema Biotina-Streptavidina e polimerica, IHC in automazione per finalità diagnostica (sistema Benchmark).
- Marcatura con Ab fluoresceinati per analisi citofluorimetrica, interpretazione dello scattergram per la valutazione di processi linfoproliferativi.
- Teoria ed applicazioni dell' incluso citologico in paraffina (Cell-Block).
- Allestimento di cell-block da campioni di agoaspirato in formalina e sedimenti di liquidi.
- Taglio al microtomo a rotativa di blocchi in paraffina. Colorazione Ematossilina & Eosina e fette bianche su vetrini a carica elettrostatica per IHC.
- Principi di interpretazione morfologica al microscopio ottico, valutazione delle colorazioni ed interpretazione del segnale immunocitochimico.
- Approccio al campione citologico con metodiche molecolari (arricchimento manuale e con laser-dissezione per EGFR su adenocarcinoma polmonare).

Anatomia Patologica e Istopatologia - Edificio 20:

- Accettazione campioni istologici.
- Osservazione in sala macroscopica e descrizione macro.
- Processazione ed inclusione pezzi anatomici.
- Allestimento sezioni al microtomo e colorazione.
- Allestimento sezioni al criostato durante estemporanea
- Laboratorio di immunoistochimica ed istochimica
- Allestimento sezioni al criostato durante estemporanea.
- Laboratorio di immunoistochimica ed istochimica.

Ematologia, Emostasi e Coagulazione: II piano edificio 4-

- Conservazione campioni per dosaggi sfera emostasi e trombosi. Dosaggi coagulometrici col metodo elettromeccanico e col metodo ottico.
- Dosaggio del fibrinogeno col metodo Claus e Derivato.
- Dosaggio del Tempo di Tromboplastina Parziale .
- Dosaggi dei fattori della coagulazione.
- Esecuzione emocromi, striscio di sangue, fissazione e colorazione vetrini, formula leucocitaria.
- Lettura in camera di Burker di globuli rossi, globuli bianchi, piastrine.

- Autoanalizzatori in uso in ematologia, reagenti e coloranti per gli elementi nucleati .
- Principi di citometria a flusso, side scatter, forward scatter, impedenziometria.
- Interpretazione dei risultati di un emocromo.

-

Citogenetica-Piano terra edificio 9-

- Allestimento di colture cellulari da liquido amniotico e biopsie di villi coriali.
- Valutazione di colture cellulari mediante osservazione all'invertoscopio.
- Tecniche di harvest in diagnosi citogenetica pre-natale e post-natale.
- Osservazione al microscopio a contrasto di fase di vetrini da harvest o striscio di villo diretto e valutazione dei preparati cromosomici.
- Tecniche di bandeggio dei cromosomi.
- Preparazione di soluzioni per harvest e bandeggio.
- Ricostruzione del cariotipo mediante l'uso di cariotipizzatore.

III anno II semestre

Attività di tirocinio guidato e tirocinio di tesi: ore 350+125

Piano terra edificio 19 -Farmacologia:

- Monitoraggio terapeutico farmaci immunosoppressori: ciclosporina, tacrolimus, sirolimus, everolimus, acido micofenolico.
- Monitoraggio terapeutico farmaci antiepilettici: fenobarbitale, carbamazepina, fenitoina, acido valproico, topiramato.
- Determinazione nel sangue di metotrexate, digossina, etanolo.
- Determinazione nelle urine di sostanze d'abuso: amfetamine, barbiturici, benzodiazepine, cannabinoidi, cocaina, metadone, oppiacei.
- Dosaggio nelle urine di catecolamine, acido vanilmandelico e 5-idrossiindolacetico.

Tirocinio di tesi:

Il tirocinio di tesi viene svolto presso i laboratori diretti o frequentati dai Docenti di tesi per un minimo di 125 ore.