



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI "FEDERICO II"
Facoltà di Medicina e Chirurgia
Corso di Laurea in Tecniche di Laboratorio Biomedico
ANNO ACCADEMICO 2015/2016

I anno, II semestre

Corso integrato di Biochimica e Biochimica Clinica – B1

Programma di esame del corso di Tecniche e Metodologie Biochimiche **CFU 2**

Attrezzature e tecniche di base del laboratorio di biochimica clinica

Norme di comportamento all'interno del laboratorio. Vetreria: nomenclatura e attrezzature di base. Uso della vetreria appropriata per l'esame da svolgere. Utilizzo delle pipette, taratura di una pipetta, controllo della riproducibilità delle pipette e micro pipette.

Apparecchi termici: termostati, stufe, bagnomaria, frigoriferi, congelatori.

Bilance: tecniche, analitiche ed elettroniche. Uso delle bilance, pesate di materiali, controllo delle pesate.

Distillazione: Vari tipi di acqua. Preparazione di soluzioni con sali, acidi e basi. Soluzioni tampone.

Determinazione del pH delle soluzioni con indicatori e pHmetri.

Tecniche separative

Filtrazione, evaporazione, disidratazione, microdiffusione, estrazione con solvente. Separazione di sostanze ad alto peso molecolare da sostanze a basso peso molecolare. Deproteinizzazione, dialisi, gel-filtrazione, ultrafiltrazione.

Centrifugazione

Principi di base della sedimentazione. Centrifugazione preparativa e centrifugazione analitica. Tipi di centrifughe e loro utilizzo. Centrifughe refrigerate ed ad alta velocità. Ultracentrifughe. Tipi di rotori e manutenzione dei rotori.

Centrifugazione differenziale. Centrifugazione in gradiente di densità. Separazioni in gradiente di densità. Analisi delle frazioni subcellulari separate. Applicazioni dell'ultracentrifuga analitica.

La sicurezza nell'utilizzo delle centrifughe

Tecniche cromatografiche

Principi generali. Preparazione del campione. Tempo di ritenzione, volume di eluizione, velocità di flusso, volume morto, rapporto di partizione. Efficienza di un sistema cromatografico: piatti teorici, risoluzione dei picchi, capacità. Vari tipi di cromatografia: adsorbimento, ripartizione, esclusione molecolare, scambio ionico, affinità. TLC (Thin layer chromatography), cromatografia liquida in fase normale e inversa, gas-cromatografia, HPLC (High performance liquid chromatography). Criteri di scelta di un sistema cromatografico. Caratteristiche generali dei metodi cromatografici: sensibilità, precisione, linearità di risposta, accuratezza. Applicazioni in chimica-clinica.

SPETTROFOTOMETRIA DI ASSORBIMENTO UV-VISIBILE

Natura dell'energia radiante: elettromagnetica e corpuscolare. Colore dei corpi e spettri di assorbimento. Livelli energetici ed interazioni radiazione-materia. Assorbimento delle radiazioni visibili ed ultraviolette. Cromofori. Legge dell'assorbimento o legge di Lambert-Beer. Deviazione dalla legge di Lambert-Beer. Calibrazione e costruzione curva di taratura.

Spettrofotometri: sorgente luminosa; fenditura d'ingresso; filtri; monocromatore (prisma, reticolo); cella di misura. Rivelatori: fotocellula a semiconduttori, fotocellula ad emissione, fotomoltiplicatore. Spettrofotometro a monoraggio e a doppio raggio.

Registrazione e presentazione di uno spettro. Applicazioni della spettroscopia visibile-ultravioletto in chimica clinica. Analisi diretta, analisi con sviluppo (o scomparsa) di assorbimento. Caratteristiche analitiche dei metodi spettrofotometrici: limite di rivelabilità, sensibilità, accuratezza. Test ottico semplice (test di Warburg) o test ottico accoppiato. Applicazioni della spettrometria di assorbimento molecolare in chimica clinica.

Testi consigliati

Principi e tecniche di Chimica Clinica, L.Spandrio, Piccin editore, Padova, 2001

Biochimica e biologia molecolare. Principi e tecniche, K.Wilson e J.M. Walker, Raffaello Cportina Editore, 2006