



**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