

TEMATICA
ÎN GENETICĂ ȘI BIOLOGIE MOLECULARĂ,
PENTRU BIOLOG

Citogenetica

1. Definiția cromozomului
 2. Elementele morfologice obligatorii (cromatidele, constricția primară, centromerul, brațele cromozomiale, telomerele) și facultative (constricțiile secundare, sateliii, situsurile fragile)
 3. Clasificarea cromozomilor umani în funcție de poziția centromerului și heteromorfismele cromozomiale
 4. Metode de obținere a cromozomilor - Tehnica standard de evidențiere a cromozomilor umani
 5. Tehnicile de bandare
 6. Clasificarea internațională a cromozomilor umani (grupele A-G)
 7. Tehnicile de diagnostic prenatal: amniocenteza (principiul, etapele de cultivare ale amniocitelor, complicații); biopsia de vilozități coriale, cordocenteza, biopsia fetală, diagnosticul prenatal de preimplantare, izolarea celulelor fetale din sângele matern, beneficiile diagnosticului prenatal.
 8. Tehnici citogenetice de înaltă rezoluție. Tehnicile FISH (*fluorescent in situ hybridisation*).
 9. Definiție, principiul, sonde de ADN și marcajul fluorescent, fluorofori utilizați, tipuri de sonde utilizate în tehnicile FISH
 10. Protocolul general pentru marcajul cromosomal prin tehnica FISH
 11. Tipuri de metode FISH utilizate în diagnosticul genetic
 - Tehnicile FISH Standard
 - Tehnicile M-FISH (multicolor FISH)
 - Cariotipul molecular (array CGH)
 - Aplicațiile FISH
- Diagnosticul rearanjărilor cromosomiale complexe prin M-FISH
- Diagnosticul de preimplantare în cazul tehnicilor de reproducere umană asistată - Avantajele și dezavantajele utilizării tehnicilor FISH

Metode de analiză moleculară a genelor - Bazele analizei moleculare a ADN

1. Extracția ADN genomic (surse, principiul, etapele, kit-uri)
2. Evaluarea cantității și calității (purității) ADN extras (principii, metode fotometrice, electroforeza)
3. Amplificarea secvențelor de ADN – reacția PCR (polymerase chain reaction) – (definiție, principiul reacției PCR, etapele de bază ale reacției PCR, stabilirea condițiilor optime de realizare a reacțiilor PCR, evaluarea calității amplificării fragmentelor de ADN – electroforeza)
4. Tehnici cantitative/ semi-cantitative de analiză a acizilor nucleici prin tehnica RealTime-PCR (principiu și aplicații)
5. Analiza moleculară a expresiei genice (ARN mesager), tehnica de revers-transcripție: principiu și aplicații
6. Tehnica de microarray pentru evaluarea expresiei genice.

Analiza mutațiilor genice:

1. Mutațiile / polimorfismele genice
2. Tehnici de diagnostic molecular care utilizează enzimele de restricție. Tehnica PCR-RFLP (polymerase chain reaction – restriction fragments length polymorphism) - principiul și indicațiile tehnicilor PCR-RFLP, etapele și interpretarea rezultatelor PCR-RFLP
3. Tehnica SSCP (single strand conformation polymorphism) - Principiul și utilitate

4. Tehnicile AS-PCR si variantele acestora (ARMS-PCR, tetra-primer PCR) - principiul tehnicii ARMS-PCR și utilitate
5. Secvențierea ADN (tipurile de tehnici de secvențiere a ADN și principiile lor, utilitatea, avantajede avantajaje)
6. Secvențierea ADN prin metoda Sanger (etapele tehnicii, interpretarea și analiza de secvență prin analiza cromatogramelor obținute prin tehnica de secvențiere automată a ADN
7. Pirosecvențierea
8. Next generation sequencing

Analiza proteinelor

1. Metode de determinare cantitativă a proteinelor (colorimetric, spectrofotometric, imunometric - ELISA)
2. Metode de identificare a proteinelor (electroforeza, imunoblot, imunofenotipare, ELISA, imunohistochimie)

Diagnosticul molecular

1. Asocierea dintre diferite afecțiuni și gene HLA sau non-HLA - Sistemul HLA, haplotipuri, dezechilibre de înlănțuire
2. Markerii moleculari utilizați ca țintă în diagnosticul neoplaziilor.

Diagnosticul molecular - aplicații ale geneticii în medicina legală

1. Posibilități de diagnostic în identificarea persoanei și analiza filiației
2. Tipuri de secvențe utile în realizarea analizei ADN cu aplicații în medicina legală - Secvențele VNTR (modalitățile de analiză ale VNTR și interpretarea analizei VNTR), - Secvențele STR (tehnicele de analiză ale alelelor STR, seturile de alele STR utilizate în genotipare, interpretarea analizei ADN în medicina legală, calculul probabilității paternității pe baza frecvențelor alelice ale STR)
3. Analiza ADN mitocondrial (ADNmt) și regiunile hipervariabile HV1 și HV2 (interpretare)

Biosecuritate si controlul calitatii in laboratorul de genetica si biologie moleculara

1. Spațiul și condițiile necesare funcționării laboratorului de analize medicale
2. Spațiul și condițiile pentru laboratorul de diagnostic molecular
3. Controlul intern al calității pentru analize de biologie moleculară
4. Biosecuritatea în laboratorul de citogenetică și biologie moleculară
5. Măsuri de reducere a contaminării în laboratorul de citogenetică și biologie moleculară

Asigurarea calității în laboratoarele de analize medicale:

1. Calitate:

- Calitatea serviciilor prestate de laboratoarele medicale;
- Asigurarea calității rezultatelor analizelor medicale;
- Controlul intern al calității în laboratoarele medicale;
- Managementul echipamentelor de analiză
- Incertitudinea de măsurare - noțiuni teoretice;
- Bugetul de incertitudine, surse posibile de incertitudine apărute în laboratorul medical;
- Validarea metodelor de testare.
- Trasabilitatea măsurării;
- Controlul echipamentelor de analiza.

2. Gestionarea datelor

- Sistemul Informatic al Laboratorului – SIL (informatica medicală, prelucrarea datelor și telecomunicații); alegerea unităților de măsură ale analizelor din laboratorul medical; înregistrări de laborator;
- Formular cerere de analize medicale;
- Formular raportare rezultate

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ PENTRU EXAMENUL DE GRAD SPECIALIST ȘI PRINCIPAL ÎN GENETICĂ ȘI BIOLOGIE MOLECULARĂ

- 1.Genetica Medicala. M.Covic, D. Stefanescu, I. Sandovici. Editura Polirom, Iasi 2004
- 2.Genetica umana sub red. Prof. Emilia Severin, Ed. Scripta 2002
- 3.Alberts B. et al., 2008, Molecular Biology of the Cell. 5th edition, Taylor & Francis ltd.
- Ausubel F.M. et al. (eds.), 2003, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc.
- 4.OMS 1301/2007 pentru aprobarea Normelor privind funcționarea laboratoarelor de analize medicale
- 5.CODIS-NDIS Statistics :
<http://www.fbi.gov/hq/lab/codis/clickmap.htm>
<http://www.fbi.gov/hq/lab/codis/clickmap.htm>
<http://www.fbi.gov/hq/lab/codis/clickmap.htm>

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ PENTRU CAPITOLUL ASIGURAREA CALITĂȚII ÎN LABORATOARELE DE ANALIZE MEDICALE

1. SR EN ISO 15189:2007 Laboratoare medicale. Cerințe particulare de calitate și competență; 2. SR EN ISO 17025:2007 Cerințe generale pentru competența laboratoarelor de încercări și etalonări ;
3. SR EN ISO 9000:2010 Sisteme de management al calității. Principii de bază și vocabular
4. ISO 8402:1994, Managementul calității și asigurarea calității – Vocabular
5. Eurachem/Citac Guide CG4 Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement- Second Edition 2001;
6. Cofrac - Guide De Evaluation des Incertitudes de Mesures des Analyses de Biologie Medicale – Nov. 2006;
7. EA-4/16 EA guidelines on the expression of uncertainty in quantitative testing(GUM);
8. SR ENV 13005:2005 Ghid pentru exprimarea incertitudinii de măsurare;
9. ISO/IEC Ghid 98-3:2008 Incertitudinea de măsurare – partea a 3: Ghid de exprimare a incertitudinii de măsurare (GUM :1995), Geneva, 2008: pag. 3-58;
10. Constanța Popa, Georgeta Sorescu, Marcel Vănan, Dorina Popa, Elvira Borcan, Otilia Banu, Adina Elena Stanciu, Patricia Mihăilescu, Coralia Bleotu, *Note de curs CALILAB – Estimarea incertitudinii de măsurare și validarea metodelor de testare conform SR EN ISO 15189:2007. Aplicații practice în biochimie, hematologie, hemostază, bacteriologie, parazitologie, imunologie, serologie, virusologie*, București 2012, www.calilab.ro
11. Dumitriu IL, Gurzu B, Cojocar E, Slatineanu SM, Enea M - *Validarea metodei GOD/PAP pentru determinarea cantitativă a concentrației de glucoză în ser*, Revista Română de Medicină de Laborator Vol. 19, nr. ¼, Martie 2011, pag. 85 – 100;
12. Petru Armean, Constanța Popa, Georgeta Sorescu, Roxana Vrînceanu, Cătălin Gabriel Dinulescu - *Rolul resurselor umane în implementarea unui sistem de control al calității în laboratoarele de analize medicale*, Revista Română de Laborator Medical, nr. 22, Iunie 2011, pag. 31-37;
13. Olaru, M., Popa, C., Sorescu, G., Langă, C.A., *Continuous Medical Education – a Critical Factor for Improving of the Services Quality of the Medical Laboratories in Romania, in the Process of the Integration in the European Union*, nr. 215, în: Editor Costache Rusu, Proceedings of „The 6th International Conference on Quality Management in Higher Education - QMHE , 8-9 Juli 2010, Tulcea, ISBN 978-973-662-566-4, ISBN (Vol. 1) 978-973-662-567-1, pag. 643-646;

14. Dumitriu IL, Gurzu B, Slatineanu SM, Foia L, Mutiu T, Schiriac C, Achirecsei M, Enea M – *Model pentru calcularea incertitudinii de măsurare în laboratoarele medicale*, Revista Română de Medicină de Laborator Vol. 18, nr. ¼, Martie 2010, pag. 65 – 77;
15. Piotr Konieczka, Jacek Namiesnik, *Quality Assurance and Quality Control in the Analytical Chemical Laboratory*, CRC Press 2009
16. Constanța Popa, Georgeta Sorescu, *Note de curs CALILAB – Asigurarea calității analizelor medicale. Controlul intern și extern al calității*, București 2009, www.calilab.ro;
17. Piotr Konieczka, Jacek Namiesnik, *Quality Assurance and Quality Control in the Analytical Chemical Laboratory*, CRC Press 2009
18. Constanța Popa, Georgeta Sorescu, Marcel Vânan, *Note de curs CALILAB – Managementul calității în laboratoarele medicale*, București 2008, www.calilab.ro;
19. D. Brynn Hibbert, *Quality Assurance for the Analytical Chemistry Laboratory*, Oxford University Press 2007;
20. Conf. Dr. Liviu Dragomirescu, Dr. Viorel Vodă, *Note de curs CALILAB - Conceptul de incertitudine și calitatea măsurărilor. Evaluarea incertitudinii de măsurare. Aplicații*, București 2007, www.calilab.ro;
21. Lynne S. Garcia, *Clinical Laboratory Management*, AMS Press 2004;
22. Eamonn Mullins, *Statistics for the Quality Control Chemistry Laboratory*, The Royal Society of Chemistry 2003;
23. *Managementul Calității. Îmbunătățirea continuă a calității serviciilor de sănătate*, publicație a IMSS, București 2000
24. Lionel A. Varnadoe, *Medical Laboratory Management and Supervision*, Editura Davis Company Philadelphia 1996
25. www.renar.ro Asociația de Acreditare din România (RENAR) . Instrucțiuni de validare a metodelor utilizate în laboratoarele medicale; 26. www.westgard.com.