

**TEMATICA PENTRU EXAMENUL DE GRAD PRINCIPAL
ÎN IMUNOLOGIE CLINICĂ, PENTRU BIOLOG ȘI BIOCHIMIST
POST LABORATOR GENETICA**

PROBA SCRISĂ:

1. ELEMENTE CELULARE ALE IMUNITATII SPECIFICE

a. Limfocitele T

- Dezvoltarea limfocitelor T
- Subpopulații de limfocite T (limfocitele T efectoare, limfocitele T cu memorie = rolul lor în mecanismul de facilitare al răspunsului imun)

b. Limfocitele B

Dezvoltarea limfocitelor B

Subpopulații de limfocite B (LB naive și LB cu memorie = rol, markerii de suprafață)

- Celulele NK (funcția de supraveghere imunologică, mecanismul de activare a funcției de supraveghere imunologică)
- Celulele prezentatoare de antigen (APC)

Macrofagele = localizare în țesuturi, rol în sistemul imun

Celulele dendritice = caracteristica funcțională majoră

2. IMUNODEFICIENȚELE ȘI BOLILE AUTOIMUNE

i. Deficitul imun primar

- i. Deficitul imun predominant umoral = imunodeficiențele congenitale B (Hipogamaglobulinemia tranzitorie la nou născut, Agamaglobulinemia congenitală Bruton)
- ii. Deficitul imun celular = primar limfocitar T (sindromul Di Goerge)
- iii. Imunodeficiențele celulare combinate (sindromul de imunodeficiență combinată severă și Sindromul Wiskott-Aldrich)
- iv. Deficite ale mijloacelor nespecifice de apărare (boala granulomatoasă cronică CGD, Boala Chediak-Higashi, Deficite ale sistemului complement)

j. Imunodeficiențele secundare

- i. Sindromul de imunodeficiență dobândită SIDA (imunopatologia infecției cu HIV, răspunsul imun la infecția cu HIV, diagnosticul de laborator)

i. Boli autoimune: markeri imunologici

- i. Tiroidita autoimuna Hashimoto
- ii. Miastenia gravis
- iii. Colagenozele: artrita reumatoidă, lupus eritematos, sindromul Sjögren, sclerodermia

3. DEFINIȚIA CROMOZOMULUI

1. Elementele morfologice obligatorii (cromatidele, constricția primară, centromerul, brațele cromozomiale, telomerele) și facultative (constricțiile secundare, satelitul, situsurile fragile)
2. Clasificarea cromozomilor umani în funcție de poziția centromerului și heteromorfismele cromozomiale

3. Metode de obținere a cromozomilor - Tehnica standard de evidențiere a cromozomilor umani
4. Tehnicile de bandare
5. Clasificarea internațională a cromozomilor umani (grupele A-G)
6. 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.

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.

4. 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

5. SECVENȚIEREA ADN (TIPURILE DE TEHNICI DE SECVENȚIERE A ADN ȘI PRINCIPIILE LOR, UTILITATEA, AVANTAJE- DEZAVANTAJE)

3. Secvențierea ADN prin metoda Sanger (etapele tehnicii, interpretarea și analiza de secvență prin analiza cromatogramelor obținute prin tehnica de secvențiere automată a ADN)
4. Pirosecvențierea
5. Next generation sequencing

6. MARKERI VIRALI

Hepatita B acută și cronică (grad de infecțiozitate, monitorizare, evaluarea succesului terapiei antivirale)

AgHBe
 AgHBs
 Anti-HBc
 Anti-HBc - IgM
 Anti-HBe
 Anti-HBs

Virusul Hepatitei D (diagnostic infecție acută/cronică, diagnostic postinfecție, monitorizare infecție cronică)

AgHD
 Anti-HD

Virusul Hepatitei C (diagnostic infecție acută/cronică) – Anti-HCV

7. 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;
- Regulile Westgard pentru determinările cantitative;
- Controlul extern al calității în laboratoarele medicale/ schemele de testare a competenței/scheme de intercomparare laboratoare;
- 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 Evaluare statistică. Aplicații în laborator

- Interpretarea clinică a datelor statistice de laborator și ale populației;
- Variații biologice;
- Stabilirea intervalelor biologice de referință.

3. 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

PROBA PRACTICA

1.Reacții imunochimice folosite în laboratorul clinic = Principiile metodelor

2. Reacția de aglutinare

- a) Reacția de aglutinare directă
- b) Reacția de aglutinare indirectă
- c) Reacția de inhibare a aglutinării

3. Reacția de polimerizare în lanț -principii, aplicații

4. Electroforeza capilară în detectia rapidă a aneuploidiilor cromozomiale 13,18,21,X,Y

5.Secvențierea ADN

Metoda Sanger (etapele tehnicii, interpretarea și analiza de secvență prin analiza cromatogramelor obținute prin tehnica de secvențiere automată a ADN

Next generation sequencing

6. Reacții Ag-Ac cu reactivi marcați

- a) radioactiv – RIA
- b) enzimatic – tehnica ELISA
- c) luminiscent (fluorescent – FIA, fosforescent – PhIA – markeri utilizați)
- d) chemiluminiscent (CLIA – markeri utilizați)

e) electrochemiluminiscent (ECLIA – markeri utilizati)

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ PENTRU EXAMENUL DE GRAD PRINCIPAL ÎN IMUNOLOGIE CLINICĂ

- 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

1. *Imunologie practica in clinica si experiment*, Andrei Olinescu, Angela Dolganiuc, Ed. Viata medicala romaneasca, 2001
2. *Introducere in imunologie*, Dr. Andrei Olinescu si Dr. Mircea Panait, Editura INFOMedica, 2004
3. *Dictionar imunologie medicala*, L.M.Popescu, C. Ursaciuc, Olga Simionescu, A.C. Bancu, D.L. Radu, E. Radu, D. Andronescu, Ed. Universitara “Carol Davila”, 2002
4. *Curs Imunologie*, Victor Cristea, Monica Crisan , Editura Medicala Universitara “Iuliu Hateganu” Cluj Napoca, editia a IV-a 2011
5. Cristea V., Crișan M., Costin N., Olinescu A. *Imunologie clinică*. Editura CasaCărții de Știință, Cluj-Napoca, 2002
6. *Imunologir lucrari practice*, Anna Bozbei 2011, se poate descarca de pe <http://www.scribd.com/doc/48027010/LUCRARI-PRACTICE-IMUNOLOGIE>
7. *Imunologie si Imunochimie*, Grigore Mihaescu, Universitatea Bucuresti 2003, se poate descarca gratuit de pe <http://ebooks.unibuc.ro/biologie/mihaiescu/cuvant.htm>
8. <http://www.justmed.eu/files/Imuno/Curs%201%20-%20Org%20sist%20imun.ppt#327,44,Pielea> curs GRATUIT

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 Analises 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 Vânan, 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, Cojocaru 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, 89 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, Achirecesei 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.