**Metodologie di Anatomia Patologica per lo studio**

**di marcatori predittivi di risposta terapeutica**

Master Universitario di I Livello

Dipartimento di Sanità Pubblica, Università Degli Studi di Napoli Federico II.

Direttore del Master: Prof. Giancarlo Troncone

**Argomenti di attività didattica frontale**

Il corso del master si articola in una serie di lezioni frontali che dal primo all’ottavo modulo analizzano i principali argomenti della patologia molecolare predittiva; la parte pratica sarà svolta sia attraverso sezioni pratiche che attraverso un tirocinio formativo presso i nostri laboratori di diagnostica.

**Primo Modulo : 26 Marzo 2020**

**I biomarcatori**

10.00-10.15: “Obiettivi formativi del Master”

Faculty

10.15-11.00: “l biomarcatori inquadramento generale”

 Prof. Giancarlo Troncone

11.00-11.30 “l biomarcatori nel carcinoma colon-retto: principi generali”

 L’oncologo: Prof. Chiara Carlomagno

 Il Patologo: Dr. Caterina De Luca

11.30-12.00 “l biomarcatori nel carcinoma polmone: principi generali”

 L’oncologo: Prof. Roberto Bianco

 Il Patologo: Dr. Umberto Malapelle

12.30 – 13.30 “I biomarcatori nel carcinoma mammario ed ovarico”

 L’oncologo: Dr. Mario Giuliano

 Il Patologo: Prof. Vincenzo Arena

13.30-14.30 Lunch

14.00 – 15.00: ”I biomarcatori nel melanoma”

 L’oncologo: Dr. Luigi Formisano

 Il Patologo: Prof.Stefania Staibano

15.00 – 16.00 “I biomarcatori nei tumori cerebrali”

 L’oncologo: Prof. Alfredo Marinelli

 Il Patologo: Prof. Maria Laura de Caro

16.00 – 17.00 “I biomarcatori agnostici”

 Dr.Francesco Pepe : l’instabilità dei microsatelliti

Dr.Pasquale Pisapia : NTRK

17.00 “Take home message”

 Faculty

**Secondo Modulo : 24 Aprile 2020**

**la Preanalitica**

 10.00-10.30: ”La preanalitica: inquadramento generale

Prof. Giancarlo Troncone

 10.30-12.00: ”Tissue is the issue: il polmone”

Esperienze a confronto:

 Il radiologo interventista: Dr.Francesco Lassandro

Il broncoscopista: Dr. Carmine Guarino

Il patologo: Dr.Claudio Bellevicine

Il biologo molecolare: Dr. Umberto Malapelle

12.00 – 13.30 “Tissue is the issue: il colon-retto”

 Esperienze a confronto:

 L’ endoscopi sta: Dr. Maria Antonietta Bianco

Il chirurgo: Prof.Franco Corcione

Il patologo: Prof. Maria Rosaria d’Armiento

Il biologo molecolare: Dr. Caterina De Luca

13.30-14.30 Lunch

14.30-15.00: “Preanalitica del campione istologico”

Dr. Maria Salatiello

15.00-15.30: “Preanalitica del campione citologico”

Dr. Antonino Iaccarino

15.30-16.00: ”Valutazione della cellularità neoplastica”

 Dr. Elena Vigliar

16.00-16.30: “ Microdissezione”

Dr. Claudio Bellevicine

16.30-17.00: “Primitivo o metastasi: l’eterogeneità genomica e i test molecolari”

 Dr. Pasquale Pisapia

17.00: “Take home message”

 Faculty

**Terzo Modulo : 15 Maggio 2020**

**Le tecniche morfo-molecolari**

10.00 – 10.30: “ Le fusioni geniche come bersaglio terapeutico”

 Prof. Giancarlo Troncone

10.30 – 11.00: “ La FISH: metodologia, vantaggi e limiti”

Prof. Fabio Pagni

 11.00-12.00: “II re-arrangiamento di ALK: algoritmi diagnostici “

FISH: Prof. Fabio Pagni

Immunocitochimica: Dr. Antonino Iaccarino, Prof. Giancarlo Troncone

 12.00-12.30: “Oltre ALK: le fusioni geniche meno frequenti; ROS-1, RET e TRK”

Dr. Antonino Iaccarino, Dr. Pasquale Pisapia

 12.30-13.00: “Gli anticorpi mutazione specifica”

 Dr. Claudio Bellevicine

13.00-14.00 Lunch

14.00-14.30: “PD-L1 nel carcinoma del polmone: Inquadramento generale”

 Dr. Umberto Malapelle

 14.30-15.00: “PD-L1: la fase pre-analitica”

 Dr. Elena Vigliar

 15.00-15.30: “Valutazione del Tumor Proportion Score: microscopia e cut-off”

 Dr. Elena Vigliar, Dr. Antonino Iaccarino

 15.30-16.00: “PD-L1: le neoplasie testa-collo”

Dr. Elena Vigliar, Dr. Claudio Bellevicine, Dr. Giancarlo Troncone

 16.00-16.30: “PD-L1: nel carcinoma mammario triplo negativo”

Dr. Elena Vigliar, Dr. Claudio Bellevicine, Dr. Giancarlo Troncone

 16.30-17.00: “PD-L1: Refertazione”

Dr. Elena Vigliar, Dr. Claudio Bellevicine

17.00: “Take home message“

 Faculty

**Quarto Modulo : 26 Giugno 2020**

**Le tecniche molecolari**

10.00 – 10.30: “ Il laboratorio di biologia molecolare”

Dr. Umberto Malapelle

10.30 – 11.00: “Estrazione del DNA”

Dr. Mariantonia Nacchio

11.00 – 11.30: “Estrazione dell’RNA”

 Dr. Roberta Sgariglia

11.30 – 12.00: ”Quantificazione degli acidi nucleici: tecniche spettrofotometriche”

Dr. Maria Russo

11.30 – 12.00: “Quantificazione degli acidi nucleici: tecniche fluorimetriche”

Dr. Caterina de Luca

12.00 – 12.30: “Quantificazione degli acidi nucleici: elettroforesi micro fluidifica”

Dr. Francesco Pepe

12.30 – 13.00: “La elettroforesi capillare e nanocapillare a confronto”

Dr. Umberto Malapelle

13.00 – 14.00: Lunch

14.00 – 14.30: “Il sequenziamento genico diretto secondo Sanger”

Prof. Giancarlo Troncone

 14.30-15.00: “Interpretazione del dato di sequenza”

 Dr. Mariantonia Nacchio

 15.00-15.30: “Il pirosequenziamento”

 Dr. Francesco Pepe

 15.30-16.00: “La Real-time PCR : le basi”

Dr. Umberto Malapelle

 16.00-16.30: “La Real-time PCR automatizzata : i principi generali”

 Dr.Caterina de Luca

 16.30-17.00: “La Real-time PCR automatizzata: applicazioni cliniche”

Dr.Caterina de Luca

 17.00-17.30: “Take home message”

Faculty

**Quarto Modulo : 27 Giugno 2020**

**Sezione pratica, Parte I.**

**Quinto Modulo : 25 Settembre 2020**

**Sequenziamento genico di nuova generazione**

 **Le tecniche molecolari**

10.00 – 10.30: “NGS: principi”

Prof. Giancarlo Troncone

10.30 – 11.00: “NGS: le piattaforme”

Dr. Umberto Malapelle

11.00 – 11.30: “La scelta del pannello”

 Dr. Pasquale Pisapia

11.30-12.00: “La pipeline bio-informatica”

 Dr. Valerio Costa

12.00-13.00: “L’ispezione visuale delle sequenze: esempi pratici”

 Dr. Umberto Malapelle

13.00-14.00: Lunch

14.00-14.30: “NGS nella diagnostica molecolare delle neoplasie del colon-retto”

 Prof. Giancarlo Troncone

14.30-15.00: “NGS nella diagnostica molecolare delle neoplasie del polmone”

 Dr. Pasquale Pisapia

15.00-15.30: “NGS e BRCA”

Dr. Umberto Malapelle

 15.30- 16.00: “Il comprehensive genomic profile”

 Dr. Carlo Casale

 16.00-16.30: “Il Tumour mutational burden”

 Dr. Francesco Pepe

 16.30-17.00: ”Take home message

 Faculty

**Sesto Modulo : 23 Ottobre**

**Citopatologia molecolare**

10.00--10.30: “Inquadramento generale”

Prof. Giancarlo Troncone

10.30 – 11.00: “Rapid on site evaluation (ROSE)”

 Dr. Elena Vigliar

11.00 – 11.30: “Strisci e cell block a confronto”

 Dr. Antonino Iaccarino, Dr. Caterina de Luca

 11.30 – 12.00 : “Quantita e qualita del DNA ed RNA dal citologico”

Dr. Roberta Sgariglia

 12.00 – 12.30: “La digitalizzazione dello striscio”

 Dr. Claudio Bellevicine

12.30 – 13.00 “Il test EGFR in citologia polmonare”

Dr. Caterina de Luca

13.00-14.00 Lunch

14.00-14.30: “Criteri di adeguatezza del citologico per le metodiche di NGS”

 Dr. Elena Vigliar

14.30-15.00: ”Immunocitochimica : ALK e PD-L1 in citologia”

Prof. Giancarlo Troncone

15.00-15.30: “ Nanostring e citologia”

Dr. Umberto Malapelle

15.30-16.00: “Idylla e citologia”

Dr. Caterina de Luca

 16.00-16.30: “I controlli di qualità in citologia”

 Dr. Pasquale Pisapia

**Settimo Modulo : 20 Novembre**

**La biopsia liquida**

10.00 – 10.30 : “Pre-analitica: dal prelievo all’estrazione del cf-DNA”

Dr. Maria Russo

10.30 – 11.00: “La biopsia liquida in Real time PCR”

Dr. Francesco Pepe

11.00 – 11.30: “La biopsia liquida in digital PCR”

 Dr. Pasquale Pisapia

11.30-12.00: “La biopsia liquida in NGS”

 Dr. Umberto Malapelle

12.00-12.30: “La biopsia liquida nel carcinoma del polmone : al momento della diagnosi”

 Dr. Pasquale Pisapia

12.30-13.00: “La biopsia liquida nel carcinoma del polmone : a progressione”

Dr. Eduardo Clery

13.00-14.00 Lunch

14.00-14.30: “La biopsia liquida nel carcinoma del colon-retto: diagnostica precoce”

 Dr. Francesco Pepe

14.30-15.00: “La biopsia liquida nel carcinoma del colon-retto in stadio avanzato”

 Prof. Teresa Troiani

15.00-15.30

 La biopsia liquida oltre il ctDNA: prospettive future

 Prof. Daniela Terracciano

15.30-16.00

 La biopsia liquida: piattaforme automatizzate

 Caterina de Luca

16.00-17.00

Take home message

 Faculty

**Ottavo Modulo : Dicembre 2020**

**IX°Molecular Cytopathology**

**Centro Congressi “Federico II”**

**Via Partenope, 36 Napoli**

Il programma definitivo sarà disponibile sul sito: www.concertsrl.net

**Nono Modulo : 22 Gennaio 2021**

**Prospettive future**

10.00-10.30: “l biomarcatori emergenti”

 Prof. Giancarlo Troncone

11.00 – 12.00: “Frequenza allelica del fenotipo RAS mutato in biopsia liquida e Re-challenge terapeutico”

 L’oncologo: Dr. Antonio Avallone

 Il Patologo: Dr. Umberto Malapelle

11.00 – 12.00: “l biomarcatori nel carcinoma polmone: le co-mutazioni”

 L’oncologo: Prof. Roberto Bianco

 Il Patologo: Prof. Giancarlo Troncone

12.00 – 12.30: “L’evoluzione delle linee guida “

 Dr. Pasquale Pisapia

12.30-13.00: “I controlli di qualità”

 Prof. Giuseppe Perrone

13.00-14.00: Lunch

14.00 – 15.00: “I biomarcatori emergenti nella immunoterapia”

Dr. Elena Vigliar

15.00 – 15.30: “Il futuro dei biomarcatori agnostici “

 Dr. Francesco Pepe, Dr. Pasquale Pisapia

**Decimo Modulo : 20 Febbraio 2021**

**Sezione pratica, Parte II, 27 Giugno 2021.**

**Undicesimo Modulo: Marzo 2021**

**Discussione relazione finale**

**Argomenti affrontati nella sezione pratica, articolata in due incontri .**

* **Sezione pratica, Parte I, 27 Giugno 2020.**

**La Preanalitica**

Organizzazione del laboratorio di istopatologia;

 Organizzazione del laboratorio di citopatologia;

Preanalitica e *time around* testing;

Reflex ed on-demand testing;

Il blocchetto di paraffina dall’archivio al laboratorio;

La preparazione delle sezioni tessutali;

Le sezioni pre- e post;

Vetrino citologico : rimozione del vetrino coprioggetto;

Vetrino citologico : decolorazione;

Vetrini *vs* curl;

La definizione della percentuale di cellule neoplastiche;

La scelta dell’area tessutale: la necrosi, il muco, l’infiammazione;

Immunoistochimica ed estrazione del DNA;

La microdissezione manuale;

La microdissezione laser.

**Le tecniche morfo-molecolari**

Immunocitochimica: protocolli

Immunocitochimica: interpretazione

Scoring ALK e ROS1

 Gli anticorpi mutazione specifica: aspetti analitici

 PD-L1: i criteri di adeguatezza

 PD-L1: i controlli positivi interni

 PD-L1: come valutare la specificità del segnale

PD-L1: riproducibilità inter ed intra osservatore

**Le tecniche molecolari**

Tecniche di estrazione del DNA

Tecniche di estrazione dell’RNA

Tecniche di quantificazione degli acidi nucleici:

Tecniche di fluorimetria

Tecniche di elettroforesi microfluidifica

 Allestimento di una reazione di PCR

 Allestimento di una reazione di cycle sequencing

Elettroforesi capillare

Interpretazione del dato di sequenza: mutazioni

Interpretazione del dato di sequenza: delezioni

Lettura del pirogramma

 Allestimento di una reazione di PCR

 HRMA

**Le piattaforme automatizzate**

Idylla test KRAS-NRAS

 Idylla test EGFR

* **Sezione pratica, Parte II, 27 Giugno 2021.**

**Le tecniche molecolari (NGS)**

Il laboratorio di NGS: le piattaforme.

La scelta del pannello.

Pannelli custom e commerciali

La preparazione delle librerie: tecniche manuali.

La preparazione delle librerie: tecniche automatizzate

 La PCR in emulsione

 La scelta del Chip

**NGS: interpretazione del dato**

La pipeline bio-informatica: esercitazioni

 L’ispezione visuale delle sequenze: esercitazioni

**Biopsia liquida**

Il prelievo venoso

Vacutaneir e Strecht tube: differenze

La biopsia liquida in Real time PCR: aspetti pratici

La biopsia liquida in digital PCR : aspetti pratici

La biopsia liquida in NGS: la scelta del pannello

La biopsia liquida in NGS: aspetti pratici

 La biopsia liquida: Idylla

**Citopatologia**

Lo striscio: allestimento

Il cell block: allestimento

Visione al microscopio di citologici polmonari

Valutazione della componente cellulare neoplastica su citologico

Digitalizzazione del vetrino citologico

La rimozione del copriogetto

Estrazione di DNA e RNA da citologico

 NGS su citologico

 Nanostring su citologico