



GLP Planet



GLP-planet III
01 июля 2022 г.

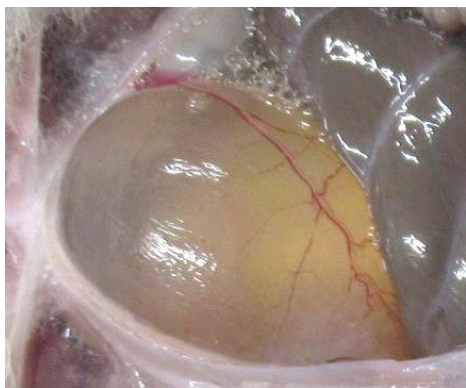
ОБЕСПЕЧЕНИЕ КАЧЕСТВА В ГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

Устенко Ж.Ю.

зам. руководителя отдела гистологии и
патоморфологии, канд. вет. наук

Лаборатория гистологии и патоморфологии
АО «НПО»ДОМ ФАРМАЦИИ»

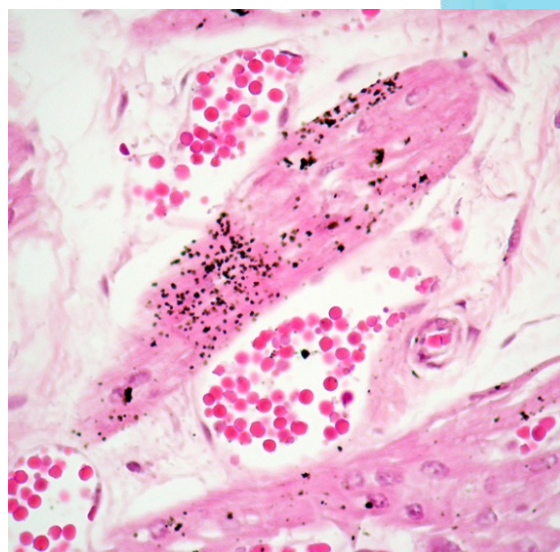
- Разнообразие методик в зависимости от задач исследования
- Чувствительность методик к качественным изменениям материала
- Широкий спектр видового разнообразия и индивидуальной изменчивости
- Значительная доля субъективности при оценке результатов
- Отсутствие при оценке значительной части параметров чётких критериев «нормы»



Мочевые пузыри кроликов с содержимым.
Разнообразие окраски мочи в норме.



- Использование, по возможности, **унифицированных**, покупаемых в готовом виде реагентов
- Где это критично, выбор реагентов с характеристиками подтверждёнными сертификатами качества или подтверждение их самостоятельно (рН формалина, например)
- **Соблюдение правил хранения, использования и сроков годности**



Формалиновый пигмент. Артефакт использования некачественного формалина.

Всегда будут исключения, не поддающиеся абсолютной стандартизации

The application notes include recommended starting dilutions; optimal dilutions/concentrations should be determined by the end user.

Application	Abreviews	Notes
<u>Flow Cyt</u>	★★★★★ (1)	Use 2µg for 10 ⁶ cells. ab170190 - Mouse monoclonal IgG1, is suitable for use as an isotype control with this antibody.
<u>WB</u>	★★★★☆ (4)	1/2000. Predicted molecular weight: 92 kDa.
<u>IHC-P</u>	★★★★☆ (5)	1/100. Perform <u>heat mediated antigen retrieval</u> before commencing with IHC staining protocol.

Автоматизация:

- Этапов изготовления гистопрепарата (маркировка/проводка/окраска)
- Некоторые методики морфологического анализа (автоматические программы для морфометрии)

Требует регулярного контроля качества со стороны человека.

Снижает риск «человеческого фактора» но **не избавляет от необходимости редактировать протоколы** под разный материал

Оборудование:

- Проведение регулярных ухода, обслуживания, мониторинга работы,
- Квалификации, где это необходимо
- Для измерительных приборов (весы и дозаторы) проведение калибровки и поверки



Этапы эвтанази, забора органов для гистологического исследования, взвешивания и фиксации

Возможные меры:

- Составление **СОПов**
- Обучение и регулярные тренинги персонала
- Инспекции сотрудниками СК и патоморфологами

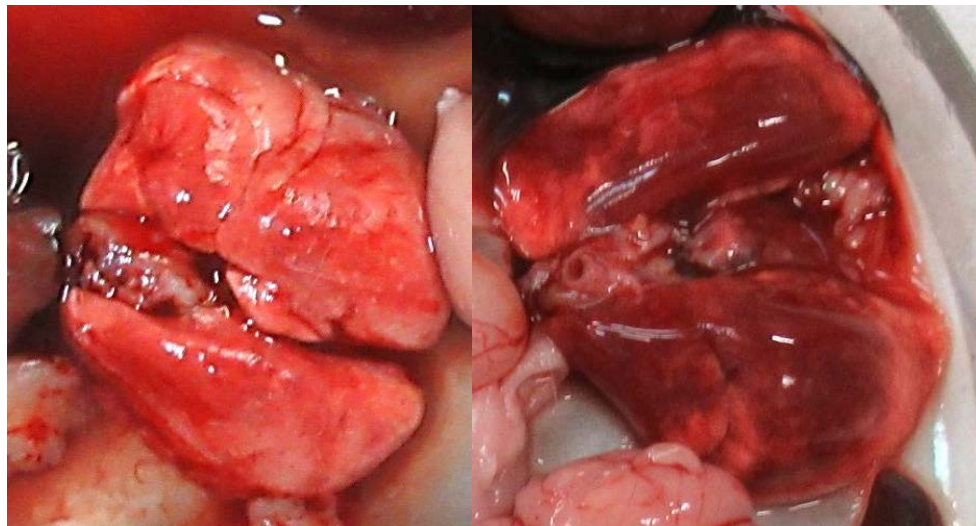
На

- процедуру эвтанази (каким методом/сколько времени или какая доза анестетика),
- порядок (что за чем) и методику извлечения органов (как, где и чем резать),
- процедуру взвешивания (на каких весах/как быстро после отбора/как фиксировать данные и в каком виде),
- процедуру фиксации (в чём/как быстро/в каком количестве фиксатора?)

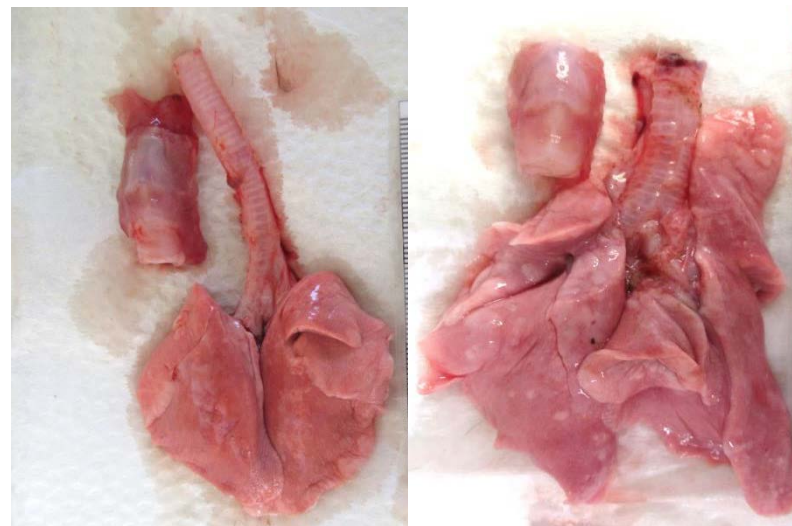
Этапы эвтаназии, забора органов для гистологического исследования, взвешивания и фиксации

Нерегулируемыми остаются:

- Индивидуальная чувствительность животных
- Человеческий фактор (снижается наличием СОПов, обучением и инспекциями)



Различная степень кровенаполнения лёгких вследствие индивидуальной чувствительности к CO₂ (повлияет на вес)



Различная длина трахеи в образце лёгких из-за отсутствия рекомендаций по извлечению органов или несоблюдения их (повлияет на вес)

Этапы обнаружения трупа, хранения до патологоанатомического исследования

Должны регламентироваться на уровне **СОП** настолько точно, насколько возможно.

- как часто проводить осмотры животных?
- в каких условиях хранить трупный материал?
- в какие сроки необходимо провести вскрытие?

Таблица 6. Качество гистологического материала в зависимости от посмертного интервала (Σ_{общ}, баллы)

Вид животных	12 ч	18 ч	24 ч	36 ч	48 ч	60 ч*	72 ч	80 ч*
Мыши	0	0	9	21	28	39	49	56
Крысы	0	0	5	17	26	30	36	44
Кролики	0	0	6	19	21	28	33	39

Примечание.

* – расчетное значение.

– Оптимальное время

– Начало аутолиза, гистологический анализ возможен

– Допустимое время, незначительная потеря качества

– Гистологический анализ малоинформативен

– Гистологический анализ неинформативен

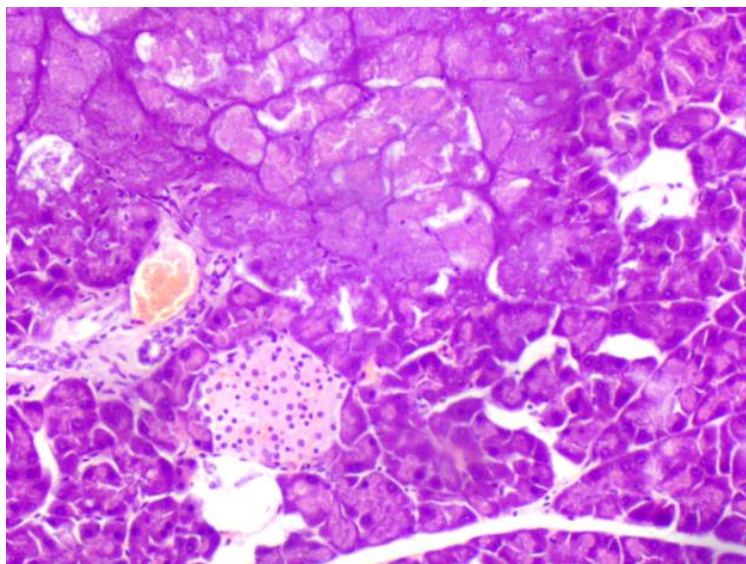
*при хранении в условиях холодильной камеры

Гущин Я.А., Беляева Е.В., Устенко Ж.Ю. Динамика посмертных изменений тел умерших лабораторных животных. Лабораторные животные для научных исследований. 2021; 4.
<https://doi.org/10.29296/2618723X-2021-04-08>

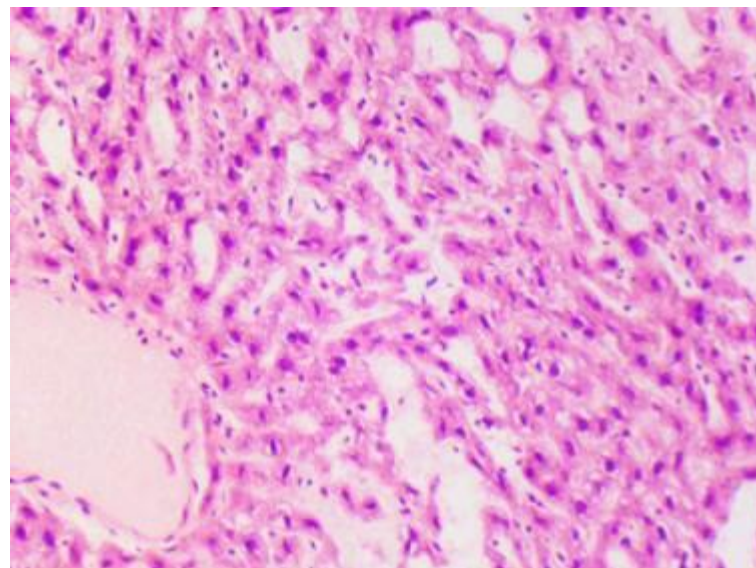
Этапы обнаружения трупа, хранения до патологоанатомического исследования

Должны регламентироваться на уровне **СОП** настолько точно, насколько возможно.

Ошибки на этом этапе могут привести к **безвозвратной утере информации**.

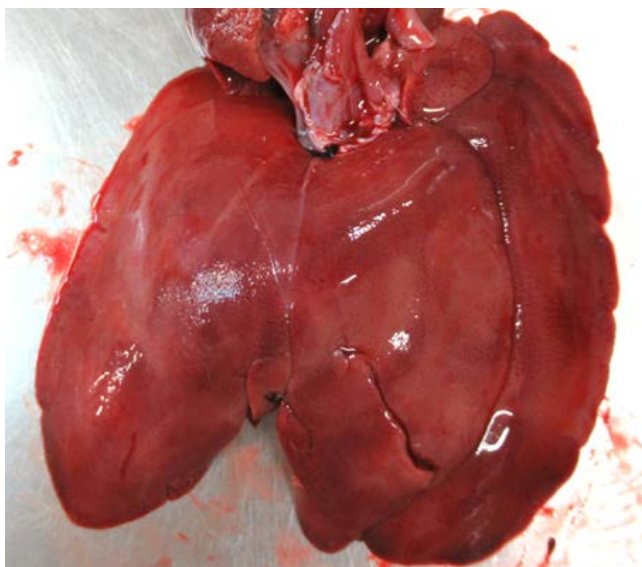
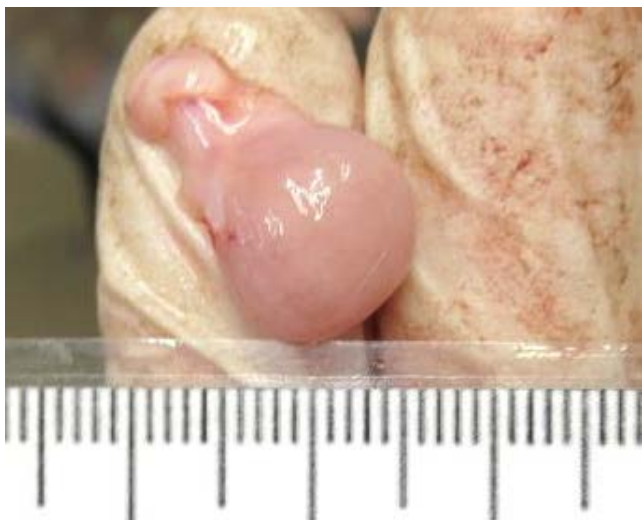


Аутолиз. Артефакт долгого хранения. Поджелудочная железа



Потеря гистоархитектоники. Артефакт заморозки. Печень

Этап оценки патологических изменений и формулировки патологоанатомического диагноза

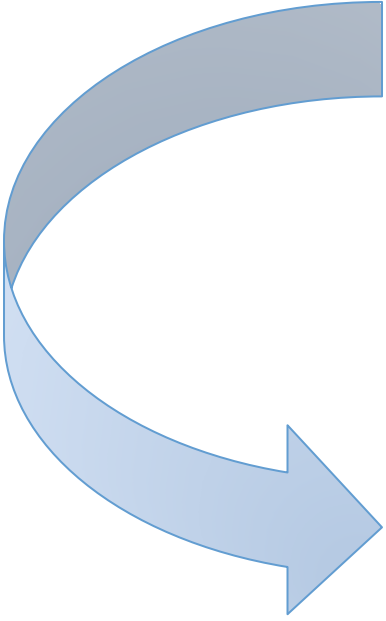


Лимфатический узел нормальный или увеличенный?
Печень желтушная на фоне дистрофии? Или на фоне нарушения условий хранения и аутолиза?



Этап оценки патологических изменений и формулировки патологоанатомического диагноза

Патоморфолог – основное лицо, от которого зависит качество этого этапа

- 
- Базовое профильное образование
 - Повышение квалификации в направлении токсикологических исследований
 - Непрерывное обучение
 - Soft skills

Качественная диагностика

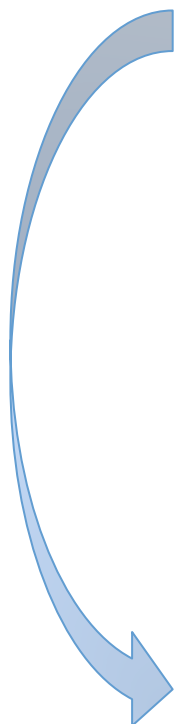
Этап оценки патологических изменений и формулировки патологоанатомического диагноза

Невозможные меры:

- Инспекции этапа «Оценка изменений»
- **СОП** на этап «Оценка изменений»

Возможные меры:

- Качественное освещение/инструментарий для работы патологоанатома
- СОП на преаналитические этапы (отбор органов, обнаружение и хранение трупного материала)
- Обращение к «экспертному» мнению внутри своей организации или вне её
- Внутрिलाбораторные «нормы»
- Использование **рекомендаций профессиональных сообществ и номенклатур** (в случае если таковые имеются)



Proliferative and Nonproliferative Lesions of the Rat and Mouse Central and Peripheral Nervous Systems: New and Revised INHAND Terms

Alys E. Bradley , Brad Bolon , Mark T. Butt , more...

[Show all authors](#) ▾

First Published September 10, 2020 | Research Article | [Find in PubMed](#)
<https://doi.org/10.1177/0192623320951154>

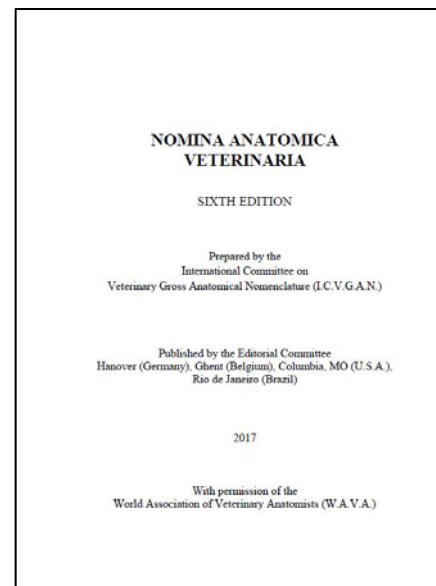
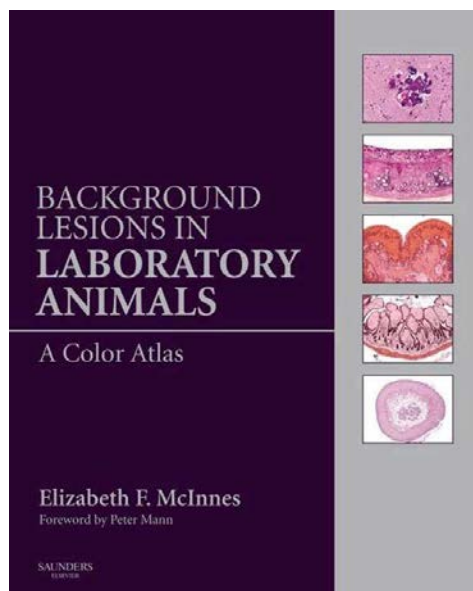


International Recommendations for Training Future Toxicologic Pathologists Participating in Regulatory-type, Nonclinical Toxicity Studies

Brad Bolon (Chair), Erio Barale-Thomas, Alys Bradley, more...

[Show all authors](#) ▾

First Published August 17, 2010 | Other | [Find in PubMed](#)
<https://doi.org/10.1177/0192623310378137>



Возможные меры обеспечения качества:

- СОП, содержащие базовую информацию, дающую чёткое представление о закономерностях процессов и влияющих на них факторов
- СОП с чётким протоколом для стандартных, регулярно используемых методов (например окраска гематоксилин-эозином)
- Обучение! **Квалифицированный персонал – основа качества на данном этапе!**

Контроль в первую очередь **внутренний** в виде **обратной связи от патолога лаборанту!**

Важно понимание патологом и лаборантом какие артефакты возможны, с чем они могут быть связаны и как их устранять.



Ядра клеток в контрольных стёклах прокрашены плохо. Нужно проверить протокол окраски.

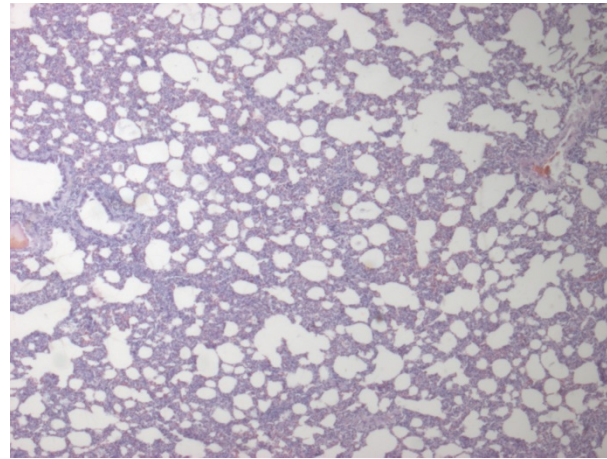
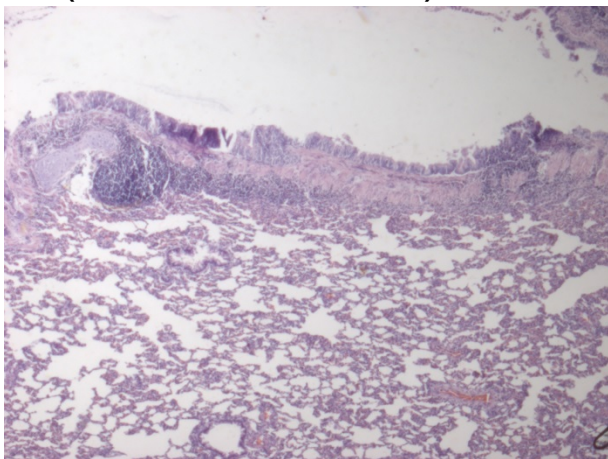


Есть несколько возможных причин. Мы проверим их.

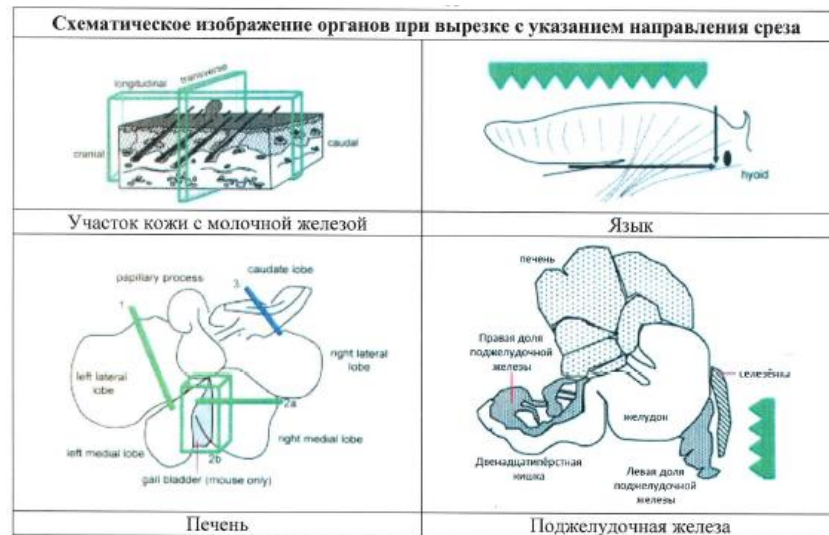
Маркировка, вырезка



Результат маркировки неподходящим маркером (нижняя кассета)


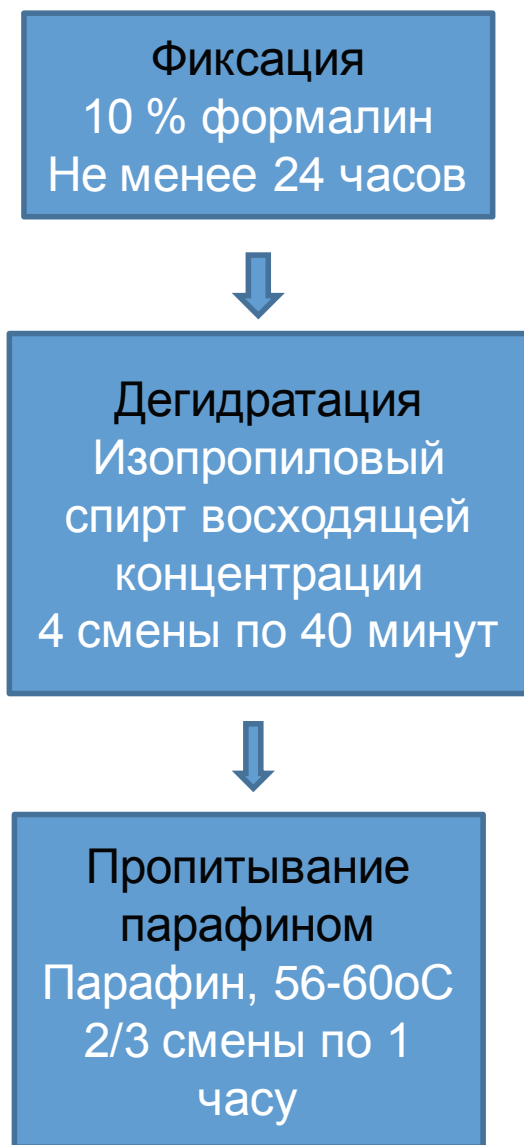


Результат вырезки лёгких на разных участках. Справа отсутствуют крупные бронхи и БАЛТ




Пример оформления стандартных рекомендаций по вырезке

Проводка



Планируется гистологическое исследование биопсий селезёнки. Возможно, стоит изменить протокол?



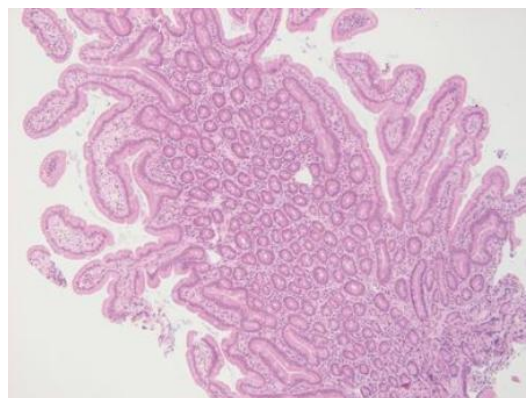
Верно! Для обработки биопсийных образцов время проводки нужно сократить!

Заливка, микротомирование

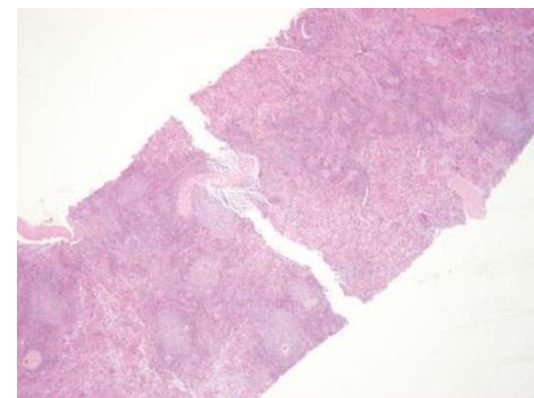
На обоих этапах большое влияние «человеческого фактора» → **СОП** должен отражать «**основные принципы работы**» + **обучение персонала**

Для заливки – возможность введения «критериев качества блока»

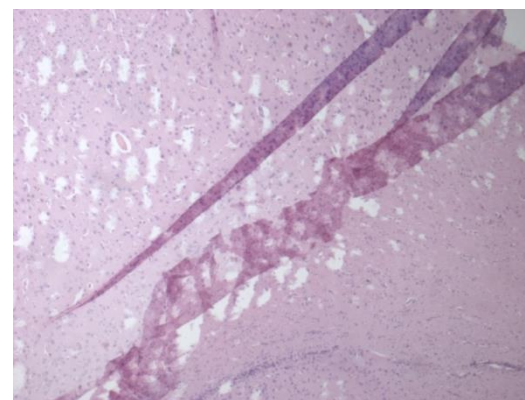
Чёткой стандартизации поддаются лишь температурные режимы работы приборов и правила использования приборов. Остальное - **мастерство лаборанта**



Неправильная ориентация образца кишечника при заливке. Попала только слизистая оболочка



Образец «поломан» напололам из-за сильного сдавливания пинцетом при заливке»



«Звёздное небо» из выпавших фрагментов ткани. Слишком быстрая и неаккуратная резка

Окраска и заключение

Возможные меры:

- Качественные реагенты
- Стандартизация рутинно используемых протоколов окраски (СОПы, памятки)
- Автоматизация



Автоматизация процесса окраски гематоксилин-эозином

Окраска и заключение

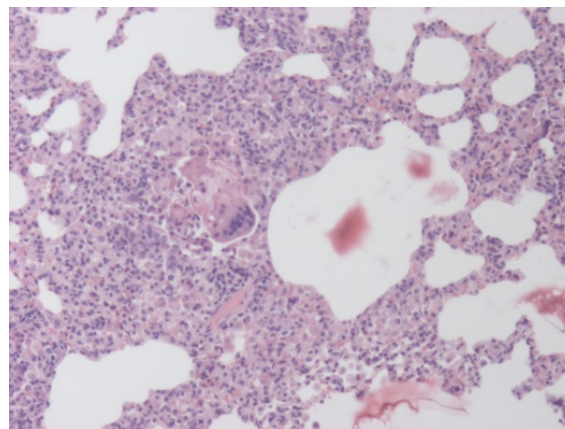
Контроль качества – **регулярный**. Обязательный при смене реагента/типа материала. В идеале, с каждой новой баночкой краски.

Контроль качества – **внутренний!** Осуществляется патологами, посредством обратной связи лаборанту.

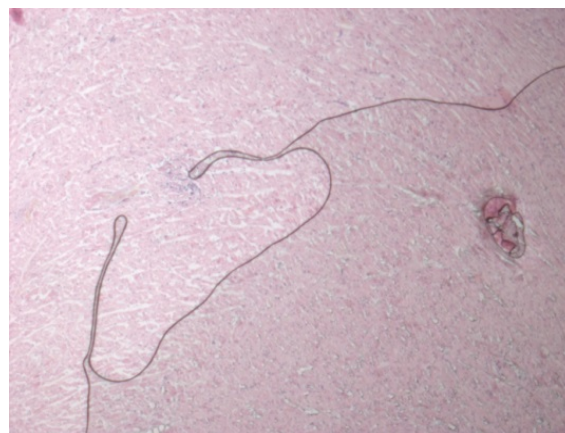
Контроль возможен на текущем материале или на срезах с созданного вами контрольного блока.

Критерии качественного стекла будут отличаться в зависимости от ваших целей и задач.

Можно ввести базовые критерии, применимые всегда – например, отсутствие пузырей.



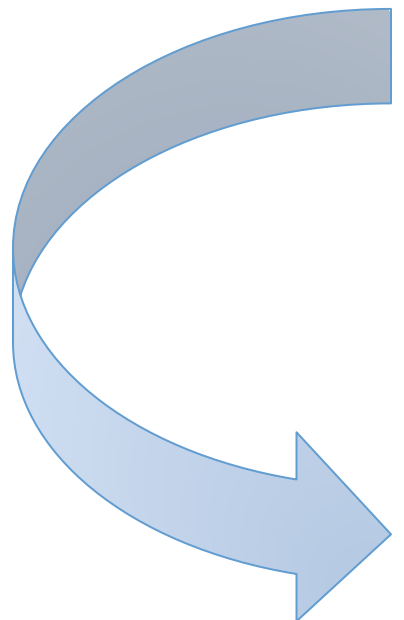
Пятна эозина на стекле. Вовремя не заменили спирты для отмывки эозина. Предотвратимо стандартизацией.



Пузырь воздуха под покровным стеклом мешающий оценке. Результат неаккуратного заключения. Человеческий фактор.

Просмотр стёкол и формулировка патогистологического диагноза

Патоморфолог – основное лицо, от которого зависит качество этого этапа

- 
- Базовое профильное образование
 - Повышение квалификации в направлении токсикологических исследований
 - Непрерывное обучение
 - Soft skills

Качественная диагностика

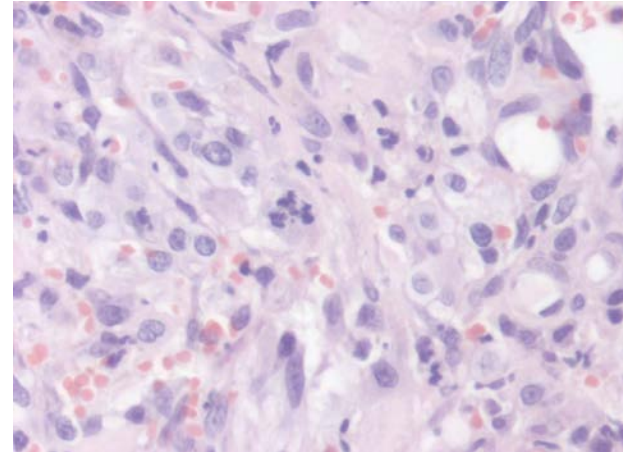
Просмотр стёкол и формулировка патогистологического диагноза

Невозможны:

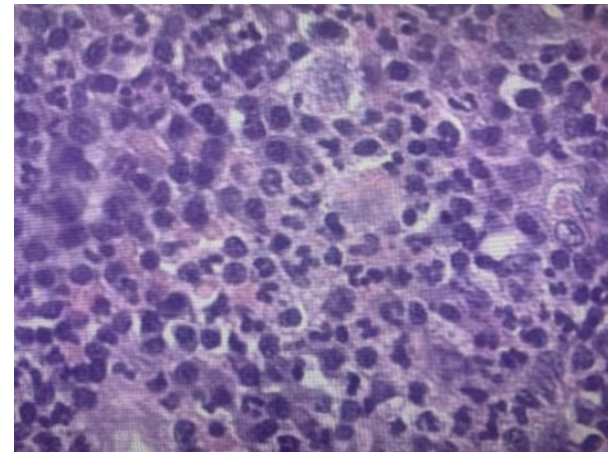
- Инспекции этапа
- СОП по оценке патогистологических изменений

Возможные меры:

- Стандартизация преаналитики
- Качественное оборудование
- Обращение к «экспертному» мнению внутри своей организации или вне её



Хорошая оптика. Хорошая детализация ядер.

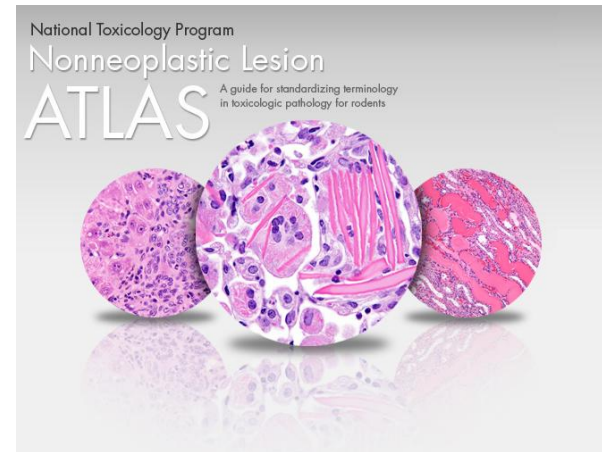


Оптика хуже, детализация ядер хуже

Просмотр стёкол и формулировка патогистологического диагноза

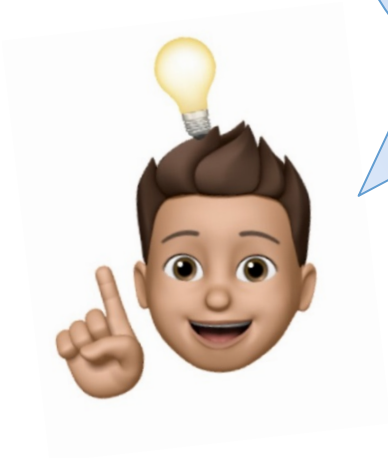
Возможные меры:

- Использование рекомендации профессиональных сообществ и номенклатур
- Внутрилабораторные стандарты описания/анализа
- Слепленное и параллельное исследование двумя патологами (применять с умом!)



RECOMMENDATION:

Ulceration of the glandular stomach should be diagnosed and graded based upon the extent and distribution of the lesion. Edema, inflammation, and hyperplasia of the adjacent epithelium should not be diagnosed separately unless they are a prominent component of the lesion. Necrosis of epithelium is diagnosed instead of ulceration if the necrotic epithelium is still present and at least partially attached to the underlying lamina propria.



Спасибо за
внимание

На случай, если
остались вопросы:
ustenko.ju@doclinika.ru

