

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ «МОСКОВСКАЯ ГОРОДСКАЯ
ОНКОЛОГИЧЕСКАЯ БОЛЬНИЦА № 62 ДЕПАРТАМЕНТА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ г. МОСКВЫ**

«УТВЕРЖДЕНО»

На заседании Ученого совета

№ 6 от « 29 » 06 2023г.



«СОГЛАСОВАНО»

Главный врач

Д.Ю.Каннер

06 2023г.

**ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ ПРОГРАММА
ПОВЫШЕНИЯ КВАЛИФИКАЦИИ**

**По теме: «МЕТОДИКА ФЛЮОРЕСЦЕНТНОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ
IN SITU (FISH)».**

Категория слушателей: 31.08.07 Врач-патологоанатом;

31.08.05 Врач клинико-лабораторной диагностики;

31.08.06 Врач-лабораторный генетик.

Продолжительность: 72 часа (10 рабочих дней)

Форма обучения: очная

Руководитель курса: Демидова И.А., заведующая молекулярно-биологической лабораторией.

Москва, 2023г.

Дополнительная профессиональная программа повышения квалификации «МЕТОДИКА ФЛЮОРЕСЦЕНТНОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ IN SITU (FISH)» составлена на основании требований Федерального закона от 29.12.2012 № 273-ФЗ (ред.13.06.2023) «Об образовании в Российской Федерации», Федерального закона от 21.11.2011 №323-ФЗ (ред.28.04.2023) «Об основах охраны здоровья граждан в российской Федерации», Приказа Минобрнауки России от 01.07.2013 № 499 (ред.15.11.2013) «Об утверждении Порядка организации и осуществления образовательной деятельности по дополнительным профессиональным программам»

Дополнительная профессиональная программа повышения квалификации (далее- Программа) разработана с учетом профессионального стандарта 02.029 «Врач-патологоанатом», регистрационный номер 1108 (утвержден приказом Министерства труда и социальной защиты Российской Федерации от 14.03.2018 № 131н)

или

02.032 «Специалист в области клинической лабораторной диагностики» (утвержден приказом Министерства труда и социальной защиты Российской Федерации от 14 марта 2018 года №145н)

Направленность программы практико-ориентированная

Связь программы с Профессиональным стандартом

Профессиональный стандарт «Врач-патологоанатом» или «Врач»		
ОТФ	Трудовые функции	
	Код ТФ	Наименование ТФ
Проведение патологоанатомических исследований	A/01.8	Проведение прижизненных патологоанатомических исследований биопсийного (операционного) материала
Выполнение, организация и аналитическое обеспечение клинических лабораторных исследований четвертой категории сложности, консультирование медицинских работников и пациентов	B/03.8	Выполнение клинических лабораторных исследований четвертой категории сложности

Цель обучения: совершенствование имеющихся профессиональных компетенций и повышение профессионального уровня в рамках имеющейся квалификации по специальности «Врач-патологоанатом» или «Врач клинической лабораторной диагностики» или «Врач-лабораторный генетик»

Структура Программы включает в себя ряд требований к результатам освоения программы:

1. исполнение учебно-методического плана;
2. соблюдение календарного учебного графика;
3. итоговая аттестация.

ТРЕБОВАНИЯ К РЕЗУЛЬТАТАМ ОСВОЕНИЯ

1. Требования к квалификации: высшее медицинское образование по специальности «Врач-патологоанатом» или «Врач клинической лабораторной диагностики» или «Врач-лабораторный генетик»
2. В результате освоения Программы появятся новые профессиональные компетенции-готовность к организации, выполнению и квалифицированной оценке результатов исследований методом флюоресцентной гибридизации *in situ*.

ПЛАНИРУЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОБУЧЕНИЯ

В результате освоения Программы слушатель должен приобрести знания, умения и навыки, необходимые для качественного изменения профессиональных компетенций в соответствии с профессиональным стандартом.

По окончании обучения слушатель должен знать:

1. Теоретические основы метода
2. Технику выполнения исследования и технику владения работы с флюоресцентным микроскопом
3. Принципы оценки результатов исследования
4. Правила составления заключения с использованием современной международной номенклатуры

По окончании обучения слушатель должен уметь:

1. Отбирать образцы для проведения FISH
2. Проводить необходимые этапы пробоподготовки и гибридизации, а также постгибридизационную обработку образца
3. Проводить исследование образца при помощи флюоресцентного микроскопа, осуществлять фотосъемку, владеть навыками работы с прилагаемыми программами компьютерной обработки изображения
4. Уметь правильно оценивать результат гибридизации с использованием существующих национальных и международных рекомендаций
5. Правильно составлять заключение по результатам исследования

ТРЕБОВАНИЯ К ИТОГОВОЙ АТТЕСТАЦИИ

1. Итоговая аттестация проводится в форме тестового зачета и выявляет теоретическую и практическую подготовленность слушателей в соответствии с требованиями квалификационных характеристик специалиста.
2. К итоговой аттестации допускаются слушатели, полностью выполнившие программу обучения. Зачет проводится в форме тестирования.
3. Лица, успешно освоившие Программу, получают удостоверение о повышении квалификации, установленного образца.

4. Лица, не прошедшие итоговую аттестацию или получившие в ее результате неудовлетворительные оценки, получают взамен удостоверения справку о прохождении курса обучения без итоговой аттестации, установленного образца.

КАЛЕНДАРНЫЙ УЧЕБНЫЙ ГРАФИК

Форма обучения	Академических часов в день	Дней в неделю/Всего дней за курс	Общая трудоемкость программы в часах	Итоговая аттестация
очная	8	5/10	72	зачет

УЧЕБНО-ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН

Всего часов -72 часа, из них лекции- 14 часов, практические занятия –36 часов, Самостоятельная работа под контролем куратора -24 часа, проведение контрольного опроса и проверка полученных практических навыков – 2 часа.

Форма обучения: очная

Режим занятий: 8 часов в день

№ п/п	Наименование разделов и тем программы	Всего часов	В том числе			Форма контроля
			Лекции	Практические занятия	Самостоятельная работа под контролем куратора	Зачет
1.	Раздел 1. Общие принципы метода FISH					
1.1	Классические цитогенетические методы	2	2	-	-	
1.2	Возникновение и совершенствование метода FISH, наиболее разработки	2	2	-	-	
2.	Раздел 2. Применение метода в онкологической практике					
2.1	Диагностические и прогностические тесты	2	2	-	-	
2.2	Современные клинические рекомендации по применению метода	2	2	-	-	
3.	Раздел 3. Непосредственное изучение методики					
3.1	Основные этапы пробоподготовки и гибридизации	24	2	16	6	
3.2	Работа с флюоресцентным микроскопом, оценка результатов исследования	24	2	16	6	
4.	Раздел 4. Формирование заключения по результатам исследования					
4.1	Знакомство с международной номенклатурой и общими правилами формирования заключения	5	1	-	4	

4.2	Самостоятельное формирование заключений	9	1	4	4	
	Итоговый контроль	2				2 Итоговое тестирование
	Всего часов	72	14	36	20	2

ТЕМАТИКА ЛЕКЦИОННЫХ ЗАНЯТИЙ

№ п/п	Тема	Часы	Содержание	Формируемые знания
1.	Общие принципы методики FISH	2	Описание основ метода, истории его создания и совершенствования, основных подходов	Понимание сущности метода, его теоретических основ
2.	Особенности проведения FISH на образцах, фиксированных в формалине и залитых в парафин	1	Определение важности правильной преаналитической подготовки, модификации методики для работы с материалом, фиксированным в формалине и залитом в парафин	Понимание и умение применять на практике основных этапов пробоподготовки и гибридизации, постгибридизационной обработки образца, фиксированного в формалине и залитого в парафин
3.	Значение исследований FISH в онкологической практике	2	Роль исследований для определения прогностических и предиктивных маркеров в онкологии	Умение применять методику для диагностических целей согласно клиническим рекомендациям
4.	Общий обзор значения исследования амплификации гена <i>erbB2</i> (HER2) методом FISH при раке молочной железы, раке желудка, колоректальном раке	2	Изучение ведущего значения применения исследования в современной диагностике при раке молочной железы, раке желудка, колоректальном раке	Понимание важности своевременного и обязательного использования маркера при раке молочной железы, раке желудка, колоректальном раке
5.	Исследование амплификации гена <i>erbB2</i> (HER2) методом FISH при раке молочной железы, технические особенности и международные рекомендации	1	Изучение основных принципов международных клинических рекомендаций при исследовании амплификации гена <i>erbB2</i> (HER2) методом FISH при раке молочной железы	Владение современными принципами исследования, изложенными в рекомендациях международного и национального значения
6.	Обзор других методов тестирования – ИГХ, ПЦР, секвенирование следующего поколения	1	Понимание значения каждого из методов, их преимуществ и ограничений в диагностике	Владение основами правильной трактовки результатов исследований методами ИГХ, FISH, NGS
7.	Сложные случаи, обусловленные биологическими особенностями образца: внутриопухолевая гетерогенность	2	Знакомство с различными видами внутриопухолевой гетерогенности, понимание особенностей проведения исследований в гетерогенных случаях	Умение правильно оценить результаты исследования в случае внутриопухолевой гетерогенности, разработать необходимый алгоритм оценки
8.	Сложные случаи, обусловленные техническими проблемами: образцы с нарушениями фиксации, малые биопсии	2	Определение значения правильной преаналитической обработки, качества образца и количества опухолевой ткани	Умение определить причины неудачи исследования, связанные с нарушением преаналитики и определить возможные пути преодоления проблемы
9.	Основные принципы создания заключения по	1	Знакомство с международными классификаторами и	Необходимые навыки по правильному формированию заключения

	результатам исследования – международные требования		кодировками, необходимыми для формирования заключения	с учетом клинических рекомендаций и правил GLP (Good Laboratory Practice)
	Всего часов	14		

ТЕМАТИКА ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЙ

№ п/п	Тема	Часы	Содержание	Формируемые знания
1.	Исследование образцов методом световой микроскопии, изучение основных принципов отбора препаратов, пригодных для выполнения FISH	4	Определение необходимых условий для правильного отбора образцов, пригодных для проведения исследования	Приобретение навыков правильного отбора образцов, пригодных для проведения исследования
2.	Приготовление срезов для выполнения FISH на гистологических препаратах	4	Изучение особенностей приготовления валидных срезов	Приобретение необходимых навыков по приготовлению срезов
3.	Знакомство с основным оборудованием, используемым при проведении FISH	4	Изучение списка и технических характеристик необходимого оборудования	Понимание особенностей и характеристик оборудования, используемого для проведения FISH
4.	Проведение депарафинизации, протеолиза, нанесение пробы и подготовка к проведению гибридизации	4	Понимание основных этапов предгибридизационных этапов обработки образца	Умение применять на практике основные этапы предгибридизационной обработки, применение различных модификаций методики
5.	Проведение гибридизации	4	Изучение различных режимов гибридизации, понимание их особенностей	Владение различными режимами гибридизации на практике
6.	Завершение процесса гибридизации, отмывка, окраска и заключение образцов	4	Изучение основных этапов постгибридизационной обработки и подготовки образца к микроскопии	Умение применять на практике различные этапы постгибридизационной обработки образцов
7.	Изучение основ работы с флуоресцентным микроскопом – механическим и автоматическим	4	Изучение основных принципов флуоресцентной микроскопии	Умение работать с различными модификациями флуоресцентных микроскопов: механическими и автоматическими
8.	Исследование образцов с использованием флуоресцентного микроскопа	4	Умение использовать основные принципы оценки образца и правил подсчета сигналов	Применение на практике принципов оценки образца и правил подсчета с учетом существующих клинических рекомендаций
9.	Повторная гибридизация в случае неудачи – особенности проведения	4	Понимание причин неудач исследования, возможных алгоритмов повторного исследования	Практический навык использования альтернативных алгоритмов исследования
	Всего часов	36		

ТЕМАТИКА САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ ПОД КОНТРОЛЕМ КУРАТОРА

№ п/п	Тема	Часы	Содержание	Формируемые знания
1.	Отбор образцов, приготовление срезов, термостатирование	2	Самостоятельная работа по оценке образцов и приготовлению срезов для исследования	Приобретение навыков правильного проведения первого этапа работы с образцами

2.	Проведение депарафинизации, протеолиза, нанесение пробы и подготовка к проведению гибридизации	4	Совместная работа по проведению депарафинизации и дальнейших этапов предгибризационной подготовки	Приобретение навыков по самостоятельному проведению первого этапа (предгибризационной обработке)
3.	Проведение гибридизации	4	Демонстрация особенностей гибридизационных режимов при использовании проб различных производителей	Владение различными режимами гибридизации и умение применять их на практике
4.	Завершение процесса гибридизации, отмывка, окраска и заключение образцов	4	Совместная работа по проведению заключительного этапа обработки образцов	Приобретение навыков по проведению заключительного этапа исследования
5.	Отработка навыков просмотра и подсчета сигналов	4	Изучение принципов оценки качества исследования и подсчета сигналов согласно международным и национальным рекомендациям	Владение основными принципами оценки качества исследования и подсчета сигналов согласно международным и национальным рекомендациям
6.	Отработка навыков написания заключения	2	Демонстрация принципов формирования заключений согласно принципам международной номенклатуры	Владение принципами правильного формирования заключения
Всего часов		20		

ССЫЛКИ И РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Принципы биохимии и молекулярной биологии. Под редакцией К.Уилсона и Дж.Уокера, изд Лаборатория знаний, 2020
2. Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) Application Guide. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2017
3. Молекулярно-генетические исследования в онкологии. Под редакцией В.В. Омеляновского и Е.И. изд Наука, 2021

ГБУЗ «МГОб №62 ДЗМ» обеспечивает каждого обучающегося неограниченным доступом к электронным образовательным ресурсам через сеть Интернет.

ОПИСАНИЕ ОРГАНИЗАЦИИ ОЦЕНИВАНИЯ И ПРАВИЛ ОПРЕДЕЛЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ОЦЕНИВАНИЯ

Итоговая аттестация проводится в форме тестового зачета и выявляет теоретическую и практическую подготовленность слушателей в соответствии с требованиями квалификационных характеристик.

К итоговой аттестации допускаются слушатели, полностью выполнившие программу обучения. Зачет проводится в форме тестирования. Вопросы для подготовки к тестированию слушатели получают в первые дни начала обучения. В случае успешного прохождения итогового экзамена слушатели получают удостоверение о повышении квалификации, образец которого самостоятельно устанавливается организацией, осуществляющей образовательную деятельность. Формулировка результата «зачтено-не зачтено» проводится по критериям, изложенным в таблице паспорта комплекта оценочных средств.

КОМПЛЕКТ ОЦЕНОЧНЫХ СРЕДСТВ

Проведение контрольного опроса и проверка полученных практических навыков

Примеры тестовых заданий

1. Оптимальным молекулярно-генетическим методом для диагностики нарушений копийности генов в образцах злокачественных опухолей, фиксированных в формалине и залитых в парафин является:
А) Полимеразная цепная реакция
Б) Секвенирование по Сэнгеру
В) Флюоресцентная гибридизация in situ (*правильный ответ*)
Г) Секвенирование нового поколения
2. Какие виды исследований основаны на методе флюоресцентной гибридизации in situ
А) Кариотипирование
Б) Секвенирование
В) Сравнительная геномная гибридизация (*правильный ответ*)
Г) Только А и В
3. В каких областях медицинской науки применяется флюоресцентная гибридизация in situ?
А) Клиническая генетика
Б) Репродуктология
В) Онкогематология
Г) Онкология
Д) Все вышеперечисленное (*правильный ответ*)
4. Этап обработки образца раствором пепсина необходим для следующих целей:
А) Улучшение проницаемости мембраны клеток
Б) Протеолиз для улучшения связывания пробы с последовательностью ДНК и уменьшения аутофлюоресценции (*правильный ответ*)
В) Денатурации ДНК
Г) Денатурации пробы
5. Какие правила преаналитической обработки образцов тканей являются обязательными для получения оптимальных результатов иммуногистохимических и генетических исследований:
А) Время холодовой ишемии не более 1 часа
Б) Время пребывания в растворе 10% забуференного формалина не менее 6 и не более 72 часов (*правильные ответы А и Б*)
В) Хранение тканевого образца при температуре -15-20С до проведения вырезки
6. Обработка образца раствором для пермебиализации необходима для;
А) повышения проницаемости клеточной мембраны (*правильный ответ*)
Б) протеолиза ядерных белков
В) денатурации ДНК
7. Постгибридизационная проводка образца выполняется для следующих целей
А) Освобождение от несвязавшейся пробы (*правильный ответ*)

- Б) Дополнительный протеолиз
 - В) Повышение проницаемости мембраны клеток
8. Основными точками применения метода FISH в онкологической практике являются:
- А) Диагностические тесты при диагностике сарком
 - Б) Выявление крупных структурных и числовых вариантов прогностической и предиктивной значимости (*правильные ответы А и Б*)
 - В) Выявление точковых мутаций, малых делеций/инсерций
9. Определение амплификации гена *erbB2* (HER2) входит в клинические рекомендации по диагностике и лечению следующих заболеваний
- А) Рак молочной железы
 - Б) Рак желудка и пищеводно-желудочного перехода
 - В) Рак мочевого пузыря
 - Г) Все перечисленное (*правильный ответ*)
10. Показаниями для проведения FISH исследования после предварительного ИГХ исследования при РМЖ являются следующие результаты ИГХ:
- А) Любой тип окрашивания (1+, 2+, 3+)
 - Б) Только окрашивание на 2+ и 3+
 - В) Только окрашивание на 2+ (*правильный ответ*)
 - Г) Только окрашивание на 1+ и 2+
11. При исследовании образца РМЖ подсчету подлежат сигналы
- А) как в инвазивном компоненте, так и в раке *in situ*
 - Б) только в инвазивном компоненте (*правильный ответ*)
 - В) как в опухолевой, так и в стромальной ткани
12. Позитивным по экспрессии и амплификации гена HER2 образец РМЖ считается при выявлении следующего процента опухолевых клеток с амплификацией:
- А) не менее 30% клеток
 - Б) более 50% клеток
 - В) не менее 10% клеток (*правильный ответ*)
 - Г) 100% клеток
13. Позитивным по амплификации гена HER2 образец РМЖ в следующих случаях
- А) соотношение среднего количества сигналов HER2 к среднему количеству сигналов CEP17 ≥ 2
 - Б) среднее количество сигналов HER2 в опухолевых клетках ≥ 6
 - В) Обнаруживается не менее 10% опухолевых клеток, отвечающих условиям А и Б
 - Г) все вышеперечисленное (*правильный ответ*)
14. Оптимальным алгоритмом работы со сложными случаями распределения сигналов (группы 2, 3 и 4) по обновленным рекомендациям ASCO/CAP 2023 является следующий:
- А) подсчет дополнительного числа клеток в инвазивном компоненте
 - Б) привлечение второго исследователя, незнакомого с результатом подсчета
 - В) изготовление нового среза и проведение исследования повторно, начиная с метода ИГХ (*правильный ответ*)

15. Когда требуется повтор исследования на операционном материале?
- А) Опухоль Grade 3
 - Б) Отрицательный результат при первичном исследовании при малом количестве опухолевой ткани в биоптате (возможная гетерогенность)
 - В) Морфологическая картина опухоли в операционном материале отличается от опухоли в биоптате
 - Г) Исследование биоптата дало сомнительный результат
 - Д) Нет уверенности в адекватной преаналитической обработке биоптата
 - Е) Все вышеперечисленное (*правильный ответ*)
16. В каких случаях исследование можно не повторять на операционном материале?
- А) Опухоль Grade 1 ER+ PR+
 - Б) Тубулярная морфология (более 90%)
 - В) Муцинозная (более 90%)
 - Г) Крибриформная (более 90%)
 - Д) Аденокистозная (более 90%)
 - Е) Все вышеперечисленное (*правильный ответ*)
17. Какое минимальное количество клеток инвазивной опухоли необходимо подсчитать для получения валидного результата?
- А) Не менее 10
 - Б) Не менее 20 (*правильный ответ*)
 - В) Не менее 50
 - Г) Не менее 100
18. В каких случаях образец считается невалидным после первичного просмотра?
- А) Контроль (нормальные клетки) показывает неадекватное распределение сигналов
 - Б) Исследователь не может обнаружить хотя бы 2 поля инвазивной опухоли
 - В) Есть признаки неадекватной пробоподготовки (избыточный/недостаточный протеолиз)
 - Г) все вышеперечисленное (*правильный ответ*)
19. Какие дефекты сигналов считаются непригодными для подсчета
- А) >50% сигналов не могут быть посчитаны из-за слабости сигналов
 - Б) >25% сигналов не могут быть посчитаны из-за слабости сигналов
 - В) >10% сигналов находятся вне ядер (*правильный ответ А и В*)
 - Г) >50% сигналов находятся вне ядер

Виды и задания по самостоятельной практической работе

1. Лабораторная работа по проведению 1 этапа гибридизации на контрольных образцах (отбор образца, термостатирование, депарафинизация, протеолиз, гибридизация)
2. Лабораторная работа по проведению 2 этапа гибридизации (отмывка образца, заключение под покровное стекло, просмотр готовых образцов)
3. Оценка результатов исследования с использованием сканированных изображений, проведение подсчетов, самостоятельное формирование заключений

Предмет(ы) оценивания	Объект(ы) оценивания	Показатели оценки	Критерии оценки
Тесты	Знания, умения, навыки слушателей	Понимает сущностное содержание предложенного материала	«Зачтено»–знает, понимает и в полной мере владеет материалом. «Не зачтено»– не имеет достаточно полное представление о сущности изученного, отсутствуют знания, представления об изученном материале.

Условия выполнения задания:

1. Место выполнения: учебная аудитория и помещение лаборатории
2. Максимальное время выполнения задания: 120 минут

МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ

1. Учебные аудитории, оснащены материалами и оборудованием для проведения учебного процесса.
2. Библиотечный фонд, электронные возможности для самостоятельной подготовки обучающихся.
3. Лабораторные мощности, оснащенные всем необходимым оборудованием и контрольными образцами для отработки практических навыков.

КАДРОВОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ РЕАЛИЗАЦИИ ПРОГРАММЫ

Реализация программы осуществляется преподавательским составом, состоящим из специалистов, систематически занимающихся лабораторной деятельностью по данному профилю, со стажем работы по специальности не менее 10 лет.