<table>
<tr><td></td><td colspan="4">ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России

ЛАБОРАТОРИЯ ТОКСИКОЛОГИИ

НАУЧНОГО ЦЕНТРА
ИННОВАЦИОННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
С ОПЫТНО-ПРОМЫШЛЕННЫМ ПРОИЗВОДСТВОМ</td></tr>
<tr><td colspan="2">СОП №:</td><td>Номер версии:</td><td colspan="2">Число страниц:</td></tr>
<tr><td colspan="2" rowspan="3">IV/2П-012-2022/3</td><td>3</td><td colspan="2">8</td></tr>
<tr><td>Дата начала действия версии СОП:</td><td colspan="2">Дата окончания действия версии СОП</td></tr>
<tr><td>15.06.2022</td><td colspan="2">15.06.2024</td></tr>
<tr><td>Наименование СОП:</td><td colspan="4">Окрашивание скелетов плодов ализарином для исследования состояния костной системы по методу Доусона</td></tr>
<tr><td>Составлено/
Пересмотрено:</td><td>_____
подпись</td><td>19.05.2020
08.06.2022
дата</td><td colspan="2">Т.Д. Денисова</td></tr>
<tr><td>Проверено:
Руководитель СОК</td><td>_____
подпись</td><td>_10.06.2022_
Дата</td><td colspan="2">В.Н. Перфилова</td></tr>
<tr><td>Утверждено:
Руководитель лаборатории</td><td>_____
подпись</td><td>_13.06.2022___
дата</td><td colspan="2">Л.И. Бугаева</td></tr>
<tr><td colspan="2">Форма обучения:</td><td>чтение ✓</td><td colspan="2">практические занятия</td></tr>
</table>

1. **НАЗНАЧЕНИЕ**

1.1. Цель: описание процесса окрашивания скелета плодов ализарином.

1.2. ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ:

СОП - предназначена научным сотрудникам, принимающим участие в исследованиях по репродуктивной токсикологии и является обязательным для изучения

2. **НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ**

2.1. ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЗАКОН №61-ФЗ «ОБ ОБРАЩЕНИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ» (с изменениями и дополнениями ФЗ от 13.07.2015 N 241-ФЗ и ФЗ от 22.12.2014 N 429-ФЗ в редакции от 13.07.2015).

2.2. Межгосударственный стандарт ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 20 ноября 2014 г. № 1700-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 33044—2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 августа 2015 г. Настоящий стандарт идентичен международному документу OECD, Guide 1:1998 (“OECD principles of good laboratory practice”, IDT))

3. ОТВЕТСТВЕННОСТЬ

За выполнение данной процедуры несет ответственность научный сотрудник (исследователь) лаборатории токсикологии, имеющий соответствующие знания и опыт работы, прошедший обучение по данной СОП

4. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Окрашивание скелета плодов ализарином (Руководящие методические материалы по экспериментальному и клиническому изучению новых лекарственных средств, 1975), применяют в исследованиях по репродуктивной токсикологии для изучения состояния скелета плодов по методу Доусона в модификации отдела эмбриологии НИИЭМ АМН СССР («Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств», 2012).

5. ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Принципы надлежащей лабораторной практики (Good Laboratory Practice (GLP) - Система обеспечения качества, имеющая отношение к процессам организации, планирования, порядку проведения и контролю исследований в области охраны здоровья человека и безопасности окружающей среды, а также оформления, архивирования и представления результатов этих исследований.

Стандартные операционные процедуры; СОП (standard operating procedures; SOPs) - Документированные процедуры, содержащие описание процессов проведения испытаний или другой деятельности, как правило, не представленные детально в планах исследования или руководствах по методам проведения испытаний.

6. СОКРАЩЕНИЯ

СОП – стандартная операционная процедура.

7. ПРИМЕНЯЕМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ/ИНСТРУМЕНТЫ/РЕАКТИВЫ

7.1. Медицинские инструменты (пинцет анатомический, пинцет хирургический).

7.2. Чашки Петри, бинты, фильтровальная бумага, стеклянные/пластиковые емкости (флаконы).

7.3. Этанол 96^0

7.4. Гидрооксид калия

7.5. Глицерин

7.6. Дистиллированная вода

7.7. Ализарин красный

7.8. Формалин

7.9. Шариковые ручки

7.10. Журнал регистрации данных

8. ПРОЦЕДУРА ВЫПОЛНЕНИЯ

8.1. Для окрашивания по методу Доусона плоды необходимо поместить в 96^0 этанол не менее, чем на 7 дней.

8.2. Для этого выделенные плоды помещают в стеклянную/пластиковую емкость (флакон) с этанолом. При этом количество спирта должно превышать объем фиксируемых плодов в 5-10 раз. Периодически необходимо менять спирт.

8.3. После фиксации в этаноле, плоды каждого помета переносят в чашки Петри.

8.4. После этого плод фиксируют в положении на спине и скальпелем проводят разрез в направлении сверху вниз через грудную клетку до нижней части брюшной полости, затем осторожно удаляют внутренние органы хирургическим пинцетом.

8.5. После удаления внутренних органов, плоды погружают в 1% раствор КОН для просветления мягких тканей.

8.6. Для приготовления 1% раствора КОН берут 1 г гидрооксида калия и растворяют в 99 мл воды.

8.7. Через 1-2 суток, когда становятся видны закладки костей, плоды вынимают из щелочи и промывают водопроводной водой.

8.8. Затем плоды переносят в раствор А.

8.9. Раствор А – состоит из 150 мл глицерина, 800 мл дистиллированной воды и 10 г КОН, к которому перед употреблением добавляют несколько капель раствора Б (1% водный раствор ализарина красного) до появления светло-фиолетового цвета.

8.10. Через 3-5 суток окостеневшие участки скелета окрашиваются в интенсивно красно-фиолетовый цвет.

8.11. После этого плоды переносят в чистый раствор А на 7-14 дней для обесцвечивания мягких тканей и окончательного просветления плодов.

8.12. Затем плоды обезвоживают путем медленной проводки через смеси спирта, глицерина и воды в разных пропорциях:

1 часть спирта, 2 части глицерина и 7 частей воды;

2 части спирта, 2 части глицерина и 6 частей воды;

4 части спирта, 4 части глицерина и 2 части воды;

Равные части спирта и глицерина;

Чистый глицерин, к которому добавляют 1-2 капли формалина (чтобы предупредить загнивание). В чистом глицерине плоды могут храниться.

9. СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

9.1. Руководящие методические материалы по экспериментальному и клиническому изучению новых лекарственных средств //Москва, 1975

9.2. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств// Под общей редакцией д.м.н. А.Н.Миронова. Москва, 2012. Часть первая. С.80-93.

10. ПРИЛОЖЕНИЕ

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Лаборатория токсикологии

НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России

СОГЛАСОВАНО
Руководитель СОК
_____ В.Н. Перфилова
«___» _____20___г.

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель ИЦ
_____Л.И. Бугаева
«___» _____20___г.

Журнал регистрации приготовления и учета растворов для окрашивания скелета плодов

Место хранения: 400087, г. г. Волгоград, ул. Новороссийская, д. 39. Помещение _____

Начат	
Окончен	

Список сотрудников, допущенных к заполнению журнала регистрации приготовления и учета растворов для окрашивания скелетов плодов.

№ п/п	Должность	Ф.И.О.	Подпись
1.			
2.			
3.			
4.			
5.			
6.			
7.			
8.			

Карта записи приготовления и учета растворов для окрашивания скелетов плодов**.**

Дата	Время	Приготовление растворов	Расход растворов	Подпись

Лист регистрации изменений от «08» июня 2022 в СОП № IV/2П-012-2022/3 версия 3

№ изм.	№ страницы	№ пункта	Внесенные изменения
1	1		Логотип ВолгГМУ Старого образца. **изменено на** Логотип нового образца
2	1		Номер IV/2П-1.008.1-2020 **изменен на** СОП № IV/2П-012-2022/3
3	1		Согласно СОП 1/1П-001-2021 на титульном листе **убраны** графы: дата утверждения, дата пересмотра. **Добавлено**: составлено/пересмотрено. Графа- Дата начала действия **изменена** на Дата начала действия версии СОП. **Добавлено** – Дата окончания действия версии СОП.
4	1	1	Заголовок п.1 Назначение и область применения **изменена на** Назначение Цель данной стандартной операционной процедуры (СОП) описать процесс окрашивания скелета ализарином **изменена на** 1.1. Цель: описание процесса окрашивания скелета ализарином Подпункт 1.1. СОП предназначена всем сотрудникам, выполняющим манипуляции по окрашиванию скелета ализарином, знающим методику и владеющим техникой ее выполнения. **изменены на** 1.2. ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ: СОП - предназначена научным сотрудникам, принимающим участие в исследованиях по репродуктивной токсикологии и является обязательным для изучения
5	1	2	**НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ** 2.2. ОБ УТВЕРЖДЕНИИ ПРАВИЛ НАДЛЕЖАЩЕЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ПРАКТИКИ (Приказ Минздрава России от 01.04.2016 №199н) - **Убран**
6	2		колонтитул из 4-граф **изменен** на 3 графы (убрано- начало действия)
7	2	3	П.3 Общие положения **удалены**. П.4 Ответственность за выполнение работ по процедуре **изменена на** П.3 Ответственность
8	2	4	**Добавлен** п. 4 Область применения
9	2		Термины и определения **присвоен** п.5
10	2		**Добавлен** п.6 Сокращения

11	2	5	П.5 Применяемое оборудование/инструменты **изменен** на п.7 п п. 5.1. Емкости для приготовления растворов и хранения эмбрионального материала. 5.2. Медицинские инструменты (скальпели, пинцет анатомический, пинцет хирургический). 5.3. Чашки Петри, бинты, фильтровальная бумага, стеклянные емкости (флаконы) **Изменены на:** 7.1. Медицинские инструменты (пинцет анатомический, пинцет хирургический). 7.2. Чашки Петри, бинты, фильтровальная бумага, стеклянные/пластиковые емкости (флаконы). 7.3. Этанол 96^0 7.4. Гидрооксид калия 7.5. Глицерин 7.6. Дистиллированная вода 7.7.Ализарин красный 7.8. Формалин 7.9. Шариковые ручки 7.10. Журнал регистрации данных
12	2	6	Процедура выполнения **изменена** на п.8
13	3	7	Ссылки **изменены** на п.9 Список используемых источников
14	4	8	п. 8 Приложения **изменено** на п.10 Карта регистрации первичных данных – **удалена** Вместо нее **добавлен** журнал регистрации данных

Руководитель лаборатории:

« 13 » июня 2022 г. _____ / Бугаева Л.И. _____ /

дата подпись расшифровка