

DIN EN ISO 17099



ICS 13.280

Ersatz für
DIN EN ISO 17099:2020-03

**Strahlenschutz –
Leistungskriterien für Laboratorien, die den
Zytokinese-Block-Mikrokerntest (CBMN) in peripheren Blutlymphozyten
für die biologische Dosimetrie verwenden (ISO 17099:2024);
Deutsche Fassung EN ISO 17099:2024**

Radiological protection –

Performance criteria for laboratories using the cytokinesis-block micronucleus (CBMN)
assay in peripheral blood lymphocytes for biological dosimetry (ISO 17099:2024);
German version EN ISO 17099:2024

Radioprotection –

Critères de performance pour les laboratoires pratiquant la dosimétrie biologique par
l'analyse des micronoyaux par blocage de la cytodivision (CBMN) dans les lymphocytes du
sang périphérique (ISO 17099:2024);
Version allemande EN ISO 17099:2024

Gesamtumfang 51 Seiten

DIN-Normenausschuss Radiologie (NAR)

Nationales Vorwort

Das Dokument EN ISO 17099:2024 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 85 „Nuclear energy, nuclear technologies, and radiological protection“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 430 „Kernenergie, Kerntechnik und Strahlenschutz“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR (Frankreich) gehalten wird.

Das zuständige nationale Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 080-00-01 AA „Dosimetrie“ im DIN-Normenausschuss Radiologie (NAR).

Für die in diesem Dokument zitierten Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 5725 (alle Teile)	siehe	DIN ISO 5725 (alle Teile)
ISO 11929-1	siehe	DIN EN ISO 11929-1 (VDE 0493-9291)
ISO 19238	siehe	DIN EN ISO 19238
ISO/IEC 17025:2017	siehe	DIN EN ISO/IEC 17025:2018-03

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 17099:2020-03 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) kleinere Änderungen im gesamten Text;
- b) Umstrukturierung des Dokuments zur besseren Harmonisierung mit anderen Normen zu Biodosimetrie;
- c) Hinzufügung von 7.2.7 Datensicherheitsplan;
- d) zusätzliche Anforderungen an den Bericht über die Expositionsbedingungen für die Kalibrierungskurve in 10.2;
- e) Lockerung der Anzahl der Personen, die für jede Altersgruppe zur Ermittlung der Hintergrund-Mikrokernhäufigkeit erforderlich sind, wobei die Festlegung dem Leiter des Laboratoriums überlassen wird (10.3);
- f) Hinzufügung von Einzelheiten zur Bestimmung der minimalen auflösbaren Dosis (10.4), der absorbierten Dosis (11.2.4) und der Unsicherheit (11.2.5);
- g) Streichung der Verweisung auf den Varianzkoeffizienten bei der Bestimmung des Fachwissens, wobei der Schwerpunkt auf der Verwendung von 95 %-Konfidenzintervallen zur Bestimmung des Fachwissens liegt (11.1.3);
- h) Hinzufügung einer Verweisung auf andere Expositionsszenarien (11.2.8);
- i) Streichung des Anhangs über die automatisierte Bewertung von Mikrokernen, da er als nicht in den Anwendungsbereich der Norm fallend angesehen wurde;
- j) Hinzufügung eines Mustergruppenberichts (Anhang E);

- k) Hinzufügung eines detaillierten Anhangs (Anhang F) zur Berechnung der Entscheidungsschwelle und der Nachweisgrenze zusammen mit einer Probenberechnung und einem R-Skript zur Durchführung dieser Berechnungen.

Frühere Ausgaben

DIN EN ISO 17099: 2020-03

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 11929-1 (VDE 0493-9291), *Bestimmung der charakteristischen Grenzen (Erkennungsgrenze, Nachweisgrenze und Grenzen des Überdeckungsintervalls) bei Messungen ionisierender Strahlung — Grundlagen und Anwendungen — Teil 1: Elementare Anwendungen*

DIN EN ISO 19238, *Strahlenschutz — Durchführungskriterien für Dienstleistungslaboratorien zur Anwendung der biologischen Dosimetrie mittels zytogenetischer Verfahren*

DIN EN ISO/IEC 17025:2018-03, *Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien (ISO/IEC 17025:2017); Deutsche und Englische Fassung EN ISO/IEC 17025:2017*

DIN ISO 5725 (alle Teile), *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Meßverfahren und Meßergebnissen*

Deutsche Fassung

**Strahlenschutz —
Leistungskriterien für Laboratorien, die den
Zytokinese-Block-Mikrokerntest (CBMN) in peripheren
Blutlymphozyten für die biologische Dosimetrie verwenden
(ISO 17099:2024)**

Radiological protection —

Performance criteria for laboratories using the
cytokinesis-block micronucleus (CBMN) assay in
peripheral blood lymphocytes for biological dosimetry
(ISO 17099:2024)

Radioprotection —

Critères de performance pour les laboratoires
pratiquant la dosimétrie biologique par l'analyse des
micronoyaux par blocage de la cytodièrese (CBMN)
dans les lymphocytes du sang périphérique
(ISO 17099:2024)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 24. Juni 2024 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim CEN-CENELEC-Management-Zentrum oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, der Republik Nordmazedonien, Rumänien, Schweden, der Schweiz, Serbien, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

CEN-CENELEC Management-Zentrum: Rue de la Science 23, B-1040 Brüssel

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Vorwort	5
Einleitung	7
1 Anwendungsbereich	8
2 Normative Verweisungen	8
3 Begriffe	8
4 In diesem Dokument angewendete Methodik des CBMN-Tests	10
4.1 Allgemeines	10
4.2 Analysenauftrag und Blutentnahme	10
5 Verantwortung des Auftraggebers	11
6 Verantwortung des Dienstleistungslaboratoriums	11
6.1 Aufbau und Aufrechterhaltung des Qualitätssicherungsprogramms	11
6.2 Verantwortlichkeit während der Dienstleistung	12
7 Vertraulichkeit von persönlichen Angaben	13
7.1 Überblick	13
7.2 Anwendungen der Vertraulichkeitsgrundsätze	13
7.2.1 Übertragung von Verantwortlichkeiten innerhalb des Laboratoriums	13
7.2.2 Aufträge zu Analysen	13
7.2.3 Übermittlung vertraulicher Informationen	13
7.2.4 Anonymität von Proben	14
7.2.5 Berichterstattung der Ergebnisse	14
7.2.6 Aufbewahrung	14
7.2.7 Datensicherheitsplan	14
8 Labor-Sicherheitsanforderungen	14
8.1 Überblick	14
8.2 Mikrobiologische Sicherheitsanforderungen	14
8.3 Sicherheitsanforderungen für Chemikalien	15
8.4 Optische Sicherheitsanforderungen	16
8.5 Sicherheitsplan	16
9 Durchführung der Probenahme	17
9.1 Kultivierung	17
9.2 Färben	18
9.3 Mikroskopie	18
9.4 Auswertung der Objektträger	18
9.4.1 Allgemeines	18
9.4.2 Auswertekriterien	19
9.4.3 Auswerteprotokolle	19
9.5 Automatisierte Analyse	19
10 Kalibrierquelle(n), Kalibrierkurve und kleinste nachweisbare Dosis	20
10.1 Kalibrierquelle(n)	20
10.2 Kalibrierkurve	20
10.3 Hintergrundhäufigkeit von MN	22
10.4 Vergleich mit dem Hintergrundwert: Charakterisierung der kleinsten nachweisbaren Dosis	22
11 Unfallbedingte Strahlenbelastung weniger Personen	25
11.1 Verfahren zur Auswertung von MN in BNCs	25
11.1.1 Kodierung von Proben und Objektträgern	25
11.1.2 Auswertetechniken	25
11.1.3 Fachkenntnisse des Laboratoriums bezüglich der Auswertung	25
11.2 Kriterien für die Umwandlung der ausgewerteten Häufigkeit von MN in eine Abschätzung der absorbierten Dosis	25

11.2.1	Überblick	25
11.2.2	Vergleich mit Kontrollen	26
11.2.3	Vertrauensgrenzen für die Anzahl von MN	26
11.2.4	Berechnung der absorbierten Dosis bei Ganzkörperexposition	26
11.2.5	Berechnung der Unsicherheit der absorbierten Dosis	26
11.2.6	Fälle nach akuter und nicht akuter Exposition	27
11.2.7	Prüfung der Verteilung von MN je BNC	27
11.2.8	Andere Expositionsszenarien	28
11.3	Berichterstattung der Ergebnisse	28
11.3.1	Allgemeines	28
11.3.2	Inhalt des Berichts (hinsichtlich eines Standardformulars siehe Anhang D)	28
11.3.3	Interpretation der Ergebnisse	29
12	Triage der Bevölkerung	29
12.1	Allgemeines	29
12.2	Nutzung eines Netzwerks für CBMN-Tests bei großen Strahlenunfällen	30
12.3	Verfahren zur Auswertung von MN in BNCs	30
12.4	Kriterien für die Umwandlung der ausgewerteten Häufigkeit von MN in eine Abschätzung der absorbierten Dosis	30
12.5	Berichterstattung der Ergebnisse	30
13	Qualitätssicherung und Qualitätskontrolle	30
13.1	Überblick	30
13.2	Besondere Anforderungen	30
13.2.1	Allgemeines	30
13.2.2	Leistungsprüfungen durch Ringversuche	31
13.2.3	Regelmäßige Leistungsprüfung der Auswerterqualifikation	31
13.2.4	Überprüfungen der Integrität des Proben transports	31
13.2.5	Überprüfung der Unversehrtheit der Proben durch das Dienstleistungslaboratorium	32
13.2.6	Überprüfungen der Geräteausstattung	32
13.2.7	Überprüfungen des Probenprotokolls	32
13.2.8	Überprüfungen der Probenauswertung	32
13.2.9	Überprüfungen der Dosisabschätzung und der Vertrauensgrenze	32
13.2.10	Überprüfung der Zusammenstellung des Ergebnisberichts	33
Anhang A (informativ)	Auswerteprotokoll zur Dokumentation von MN in BNCs	34
Anhang B (informativ)	Anweisungen für Auftraggeber (Muster)	35
Anhang C (informativ)	Muster — Fragebogen	37
Anhang D (informativ)	Muster — Berichterstattung — Einzelperson	39
Anhang E (informativ)	Muster für einen Gruppenbericht	41
Anhang F (informativ)	Erkennungsgrenze und Nachweisgrenze	43
F.1	Allgemeines	43
F.2	Beispiel eines R-Skripts zur Berechnung der Erkennungsgrenze und der Nachweisgrenze:	44
Literaturhinweise		46

Bilder

Bild 1 — Darstellung der Erkennungs- und der Nachweisgrenze ($\mu_0 = \text{Konstante}$)	23
--	----

Tabellen

Tabelle 1 — Liste von Reagenzien und betreffenden Gefahrenhinweisen	15
Tabelle 2 — Messabweichungsraten für die Herleitung von positiven und negativen Rückschlüssen	22

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 17099:2024) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 85 „Nuclear energy, nuclear technologies, and radiological protection“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 430 „Kernenergie, Kerntechnik und Strahlenschutz“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Dezember 2024, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Dezember 2024 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Dieses Dokument ersetzt EN ISO 17099:2017.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut/nationale Gremium des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Liste dieser Institute ist auf den Internetseiten von CEN abrufbar.

Entsprechend der CEN-CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, die Republik Nordmazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Serbien, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 17099:2024 wurde von CEN als EN ISO 17099:2024 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsinstitute (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird üblicherweise von Technischen Komitees von ISO durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale staatliche und nichtstaatliche Organisationen, die in engem Kontakt mit ISO stehen, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet bei allen elektrotechnischen Normungsthemen eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC Directives, Teil 1, beschrieben. Es sollten insbesondere die unterschiedlichen Annahmekriterien für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC Directives, Teil 2, erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

ISO weist auf die Möglichkeit hin, dass die Anwendung dieses Dokuments mit der Verwendung eines oder mehrerer Patente verbunden sein kann. ISO bezieht jedoch in dieser Hinsicht keinerlei Stellung bezüglich Nachweis, Gültigkeit oder Anwendbarkeit jeglicher beanspruchten Patentrechte. Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieses Dokuments lag ISO keine Mitteilung über ein Patent bzw. mehrere Patente vor, welche/s zur Umsetzung dieses Dokuments erforderlich sein könnte/n. Anwender werden jedoch darauf hingewiesen, dass dies möglicherweise nicht der aktuelle Informationsstand ist. Dieser kann jedoch der Patentdatenbank unter www.iso.org/patents entnommen werden. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Für eine Erläuterung des freiwilligen Charakters von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO, en: World Trade Organization) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT, en: Technical Barriers to Trade) berücksichtigt, siehe www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 85, *Nuclear energy, nuclear technologies, and radiological protection*, Unterkomitee SC 2, *Radiological protection*, in Zusammenarbeit mit dem Europäischen Komitee für Normung (CEN), Technisches Komitee CEN/TC 430, *Kernenergie, Kerntechnik und Strahlenschutz*, in Übereinstimmung mit der Vereinbarung zur technischen Zusammenarbeit zwischen ISO und CEN (Wiener Vereinbarung) erarbeitet.

Diese zweite Ausgabe ersetzt die erste Ausgabe (ISO 17099:2014), die technisch überarbeitet wurde.

Die wesentlichen Änderungen sind folgende:

- geringfügige Änderungen im gesamten Text;
- Neuorganisation des Dokuments für eine bessere Harmonisierung mit anderen Normen über biologische Dosimetrie;
- Ergänzung von 7.2.7 zum Datensicherheitsplan;
- Ergänzung zusätzlicher Anforderungen für den Bericht zu Bedingungen der Exposition für die Kalibrierkurve in 10.2;

- Lockerung der Anzahl an Einzelpersonen, die für jede Altersgruppe für die Erstellung der Hintergrundhäufigkeit von Mikrokernen erforderlich sind, und Überlassung der Bestimmung dem Leiter des Laboratoriums (10.3);
- Ergänzung von Einzelheiten zur Bestimmung der kleinsten auflösbaren Dosis (10.4), der absorbierten Dosis (11.2.4) und der Unsicherheit (11.2.5);
- Entfernung der Verweisung auf den Variationskoeffizient bei der Bestimmung der Fachkenntnisse bezüglich der Auswertung, wobei der Fokus auf dem Einsatz des 95-%-Konfidenzintervalls zur Bestimmung der Fachkenntnisse liegt (11.1.3);
- Ergänzung der Verweisung auf die hinzugefügten anderen Expositionsszenarien (11.2.8);
- Entfernung des Anhangs zur automatischen Mikrokernauswertung, da er als außerhalb des Anwendungsbereichs der Norm angesehen wird;
- Ergänzung des Musters für einen Gruppenbericht (siehe Anhang E);
- Ergänzung eines detaillierten Anhangs (siehe Anhang F) zur Berechnung der Erkennungsgrenze und der Nachweisgrenze mit einer Musterberechnung und dem R-Skript zur Durchführung dieser Berechnungen.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Auflistung dieser Institute ist unter www.iso.org/members.html zu finden.

Einleitung

Der Zweck dieses Dokuments besteht darin die Durchführung des Zytokinese-Block-Mikrokerntests (cytokinesis-block micronucleus, CBMN) in menschlichen peripheren Blutlymphozyten im Rahmen der biologischen Dosimetrie nach Exposition mit ionisierender Strahlung festzulegen. Dieser Test soll bei unfallbedingter oder böswillig erfolgter Strahlenexposition eingesetzt werden, wobei

- a) im Falle weniger betroffener Personen eine individuelle Ganzkörper-Dosisabschätzung bereitgestellt werden soll, oder
- b) im „Triage-Modus“ für Bevölkerungsgruppen schnelle, weniger genaue Dosisabschätzungen für Einzelpersonen erfolgen sollen, die zu einem späteren Zeitpunkt durch genauere Analysen verbessert werden können.

Der CBMN-Test ist ein alternatives zytogenetisches Verfahren, dessen Durchführung möglicherweise einfacher und schneller ist als die dizentrische Chromosomenanalyse [1] [2]. Er wird routinemäßig auch für den Nachweis einer Exposition mit anderen genotoxischen Stoffen neben ionisierender Strahlung eingesetzt, dies ist aber nicht Gegenstand des hier vorliegenden Dokuments. Obwohl die Kultivierung der Blutproben etwas länger dauert als bei der dizentrischen Chromosomenanalyse, ist die Analyse von Mikrokernen (MN, en: micronuclei) in binuklearen Lymphozyten einfacher.

Wie auch für die dizentrischen Chromosomenanalyse, wurde der CBMN-Test für den Notfall nach großen Strahlenunfällen mit vielen Opfern mit der „Triage-Auswertung“ angepasst. Das für die Auswertung einer ausreichenden Anzahl von zweikernigen Zellen (BNCs, en: binucleated cells) erforderliche Blutvolumen ist ähnlich dem für die Analyse dizentrischer Chromosomen. Die schnellere Auswertgeschwindigkeit für MN gleicht die längere Kultivierungsdauer aus. Jedoch muss berücksichtigt werden, dass Faktoren wie Alter, Geschlecht, Ernährungsweise und Umweltmutagene einen Einfluss auf die Ergebnisse haben können, insbesondere nach Belastung mit niedrigen Dosen [3] [4] [5]. Außerdem kann der CBMN-Test im automatisierten Modus unter Verwendung von zytometrischen Technologien durchgeführt werden, aber diese liegen außerhalb des Anwendungsbereichs dieses Dokuments.

Dieses Dokument stellt eine Leitlinie für die Durchführung des CBMN-Tests zur Dosisabschätzung unter Anwendung dokumentierter und validierter Verfahren bereit. Die Dosisabschätzung unter Anwendung des CBMN-Tests ist bei medizinischen Verfahren, im Strahlenschutzmanagement, beim Einhalten von Aufzeichnungen und in Bezug auf medizinische Anforderungen/gesetzliche Bestimmungen von Bedeutung. Dieses Dokument ist entsprechend der Anwendung des CBMN-Tests in zwei Teile unterteilt: Strahlenexposition von wenigen Einzelpersonen oder Triage von einer großen Anzahl von Personen bei einem großen radiologischen oder nuklearen Ereignis.

Ein Teil der in diesem Dokument enthaltenen Informationen ist ebenfalls in anderen internationalen Leitlinien und wissenschaftlichen Veröffentlichungen, vor allem in Technischen Berichten der IAEA (International Atomic Energy Agency) zur biologischen Dosimetrie enthalten. Dieses Dokument setzt seinen Schwerpunkt auf die Erweiterung und Normung der Bereiche Qualitätssicherung und Qualitätskontrolle sowie die Kriterien zur Akkreditierung und die Beurteilung der Durchführung. Dieses Dokument stimmt weitgehend mit ISO/IEC 17025 [6] überein, unter besonderer Berücksichtigung der spezifischen Anforderungen der biologischen Dosimetrie. Die in diesem Dokument angeführte Angabe zu Unsicherheiten bei der Dosisabschätzung entspricht dem ISO Guide 98-3 [15] (früher GUM) und ISO 5725 (alle Teile) [7].

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument behandelt Folgendes:

- a) die Vertraulichkeit von persönlichen Angaben, in Bezug auf Auftraggeber und Laboratorium;
- b) die Labor-Sicherheitsanforderungen;
- c) die für die Bestimmung der Referenz-Dosis-Effekt-Kurven verwendeten Kalibrierungsquellen und -dosisbereiche, mit denen aus den Ergebnissen des CBMN-Tests und der Nachweisgrenze die Dosis geschätzt wird;
- d) die Durchführung der Blutentnahme, Kultivierung, Aufarbeitung und Probenpräparation für den CBMN-Test;
- e) die Auswertekriterien;
- f) die Abschätzung der absorbierten Dosis anhand der Häufigkeit von Mikrokernen in BNCs;
- g) die Berichterstattung der Ergebnisse;
- h) Qualitätssicherung und Qualitätskontrolle, und
- i) informative Anhänge mit Musteranweisungen für Auftraggeber, Musterfragebogen, Musterdatenblatt für die mikroskopische Auswertung und Musterbericht.

Dieses Dokument schließt Verfahren zur automatischen Bewertung von CBMN aus.

2 Normative Verweisungen

Es gibt keine normativen Verweisungen in diesem Dokument.

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

- ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: verfügbar unter <https://www.electropedia.org/>

3.1

Hintergrundhäufigkeit

Hintergrundwert

spontane Ausbeute (oder Anzahl) von MN in BNCs, die in Kontrollproben oder Individuen, die nicht auf abnormale Weise Genotoxinen wie ionisierender Strahlung ausgesetzt sind

3.2

binukleare Zellen

BNCs

Zellen, die nach mitogener Stimulation eine Kernteilung abgeschlossen haben, aber an der Durchführung der *Zellteilung* (3.6) gehindert wurden und der Zelltyp sind, worin *Mikrokerne* (3.9) im CBMN-Test bewertet werden

Anmerkung 1 zum Begriff: Binukleare Zellen werden in der Kultur unter Verwendung von Cytochalasin-B angereichert, ein Inhibitor der Zytokinese (Zellteilung).

3.3

Chromosom

aus DNA und Proteinen bestehende Struktur, die Träger der genetischen Information ist und während der Kernteilung zu charakteristischen Formen kondensiert

3.4

Konfidenzintervall

statistischer Unsicherheitsbereich für eine geschätzte Größe, innerhalb dessen der Wert der Größe mit einer festgelegten Wahrscheinlichkeit zu erwarten ist

3.5

Cytochalasin B

Cyto-B

Reagens, das zur Blockade der *Zellteilung* (3.6) von sich teilenden Zellen verwendet wird, wodurch die Identifizierung von Zellen in der ersten Zellteilung in Form von binuklearen Zellen ermöglicht wird

3.6

Zellteilung

physikalischer Prozess der Zellteilung, die das Zytoplasma von den Mutterzellen in zwei Tochterzellen teilt

3.7

dizentrisches Chromosom

aberrantes *Chromosom* (3.3) mit zwei Zentromeren, das aus Teilen zweier gebrochener *Chromosomen* (3.3) entsteht

Anmerkung 1 zum Begriff: Es geht im Allgemeinen mit einem azentrischen Fragment einher.

3.8

linearer Energietransfer

LET

Quotient von dE/dl , wie durch die Internationale Kommission für Strahlungseinheiten und Messung (ICRU, en: International Commission on Radiation Units and Measurements) definiert, wobei dE die durchschnittliche Energie darstellt, die lokal von einem geladenen Teilchen mit spezifischer Energie beim Durchlaufen einer Weglänge dl abgegeben wird

3.9

Mikrokern

MN

Kleinkern, der ganze Chromosomen oder azentrische *Chromosomenfragmenten* (3.3) beinhaltet, die während der Kernteilung und *Chromosomensegregation* (3.3) in der Anaphase/Telophase nicht auf die Tochterkerne verteilt werden

Anmerkung 1 zum Begriff: Mehr als 90 % der durch ionisierende Strahlung induzierten Mikrokerne beinhalten azentrische Chromosomenfragmente.

3.10

nicht lichtbrechend

Prozess, bei dem Materialien Licht nicht brechen oder streuen können

3.11

Präzision

Streuung von Messungen in Bezug auf eine Lagemaßzahl bzw. Kennzahl der zentralen Tendenz

3.12

Qualitätssicherung

geplante systematische Maßnahmen, um mit angemessenem Vertrauen sicherzustellen, dass ein Prozess, eine Messung oder eine Dienstleistung die Qualitätsanforderungen erfüllt

3.13

Qualitätskontrolle

Teil der *Qualitätssicherung* (3.12), der dafür bestimmt ist nachzuprüfen, dass Systeme und Komponenten den zuvor festgelegten Anforderungen entsprechen

3.14

Dienstleistungslaboratorium

Laboratorium, das biologische Dosimetriemessungen durchführt

4 In diesem Dokument angewendete Methodik des CBMN-Tests

4.1 Allgemeines

In diesem Dokument wird die im Mikroskop bestimmte Häufigkeit von MN in kultivierten menschlichen Lymphozyten nach Blockade der Zellteilung zur Dosisabschätzung nach einer vermuteten Exposition mit ionisierender Strahlung verwendet.

Lymphozyten werden nach einem Verfahren kultiviert, das es ermöglicht, Zellen, die sich aufgrund einer blockierten Zellteilung nur einmal geteilt haben, anhand ihrer binuklearen Erscheinung zu erkennen und auszuwerten. Das setzt voraus, dass Vollblut oder isolierte Lymphozyten in einem Nährmedium mit einem Mitogen inkubiert werden, was die Auswertung von MN in BNCs der ersten Generation ermöglicht. Eine die Zellteilung blockierende Substanz, Cytochalasin-B, wird mindestens 6 h, d. h. ungefähr 24 h nach dem Beginn der Kultivierung, vor Beginn der ersten Mitose hinzugefügt, um die sich teilenden Lymphozyten im BNC-Stadium nach Kernteilung zu arretieren. Die Dauer der Zellkultivierung und der Zeitpunkt der Zugabe des Spindelgifts sind zu optimieren, um eine angemessene Anzahl von binuklearen Zellen sicherzustellen.

BNCs werden durch Zentrifugation, Behandlung mit hypotonischer Salzlösung und Fixierung in einem Gemisch aus Methanol und Essigsäure aus den Kulturen gewonnen. Die fixierten Zellen werden auf Objektträger getropft und gefärbt. Im Fall von isolierten Lymphozyten ist es auch zulässig, Präparate durch Zytozentrifugation von Zellen auf Objektträger mit anschließender Lufttrocknung, Fixierung mit Methanol und Färbung herzustellen. Die genaue von einem CBMN-Testlaboratorium angewendete Arbeitsvorschrift zur Zellkultivierung, zur Aufarbeitung der BNCs und zum Färben sollte formal dokumentiert werden.

Objektträger mit gefärbten Zellen werden mikroskopisch gescannt, um geeignete BNCs zu identifizieren. Die Häufigkeit von MN, die in einer geeigneten Anzahl von bewerteten BNCs beobachtet werden, wird unter Anwendung von Kalibrierdaten in eine Abschätzung der Strahlendosis umgewandelt.

4.2 Analysenauftrag und Blutentnahme

Entsprechend den nationalen Vorschriften sollte die Anfrage auf eine Analyse üblicherweise durch einen Arzt, der den Patienten vertritt, oder aufgrund von Rechtsansprüchen von einer anderen Behörde angefordert werden. In allen Fällen, in denen es im Normalfall möglich ist, muss die Blutentnahme für eine MN-Analyse mit der Einverständniserklärung des Patienten erfolgen. Der Leiter des Laboratoriums kann, in Abhängigkeit von den

nationalen Vorschriften, dazu aufgefordert werden, die Einverständniserklärung des Patienten aufzubewahren.

Es liegt in der Verantwortung des medizinischen Personals (z. B. Arzt, Krankenschwester usw.), die Blutentnahme und den Versand (zeitlich) so zu planen, dass sichergestellt ist, dass die Blutprobe im bestmöglichen Zustand im Laboratorium eintrifft (siehe 13.2.4). Dadurch soll vermieden werden, dass zwischen der Blutentnahme und der Abholung der Blutprobe zum Transport mehrere Stunden vergehen (für Einzelheiten siehe Abschnitt 5).

5 Verantwortung des Auftraggebers

Dieser Abschnitt enthält Elemente, die nicht vom Dienstleistungslaboratorium kontrolliert werden. Vor der Blutentnahme sollte ein erstes Gespräch zwischen dem Auftraggeber und dem Dienstleistungslaboratorium stattfinden, um die Probenentnahme und den Versand zu koordinieren. Die spezifischen Anforderungen an die Probenentnahme und den Versand sollten dem Auftraggeber erläutert werden, einschließlich der ungefähren Lieferzeit für das/die Ergebnis(se) der Analyse. Dem Auftraggeber sollte ein standardisiertes Anweisungsformular (in Anhang B abgebildet) zugesandt werden, in dem die Anforderungen erläutert werden. Die Anforderungen umfassen:

- a) Bei der Blutentnahme müssen Vacutainer®¹-Röhrchen mit Lithium- oder Natriumheparin als Antikoagulans verwendet werden. Die Vacutainer®-Röhrchen sollten vom Dienstleistungslaboratorium entweder zugesendet oder spezifiziert werden.
- b) Das Blut muss entnommen (idealerweise etwa 5 ml), klar und eindeutig gekennzeichnet, bei Raumtemperatur (ungefähr 20 °C) aufbewahrt und so bald wie möglich an das Dienstleistungslaboratorium gesendet werden.
- c) Es müssen Vorsichtsmaßnahmen getroffen werden, um die Unversehrtheit des Behälters sicherzustellen und das Austreten des Inhalts während des Transports zu verhindern. Blutproben müssen während dem Transport bei Umgebungstemperatur aufbewahrt werden, d. h. 11 °C bis 30 °C. Ein Gerät zur Temperaturaufzeichnung muss verwendet werden, um sicherzustellen, dass die Temperatur beim Transport kontrolliert wird. Verpackung und Kennzeichnung müssen nationalen und internationalen Vorschriften entsprechen. Bei Lufttransport muss ein physikalisches Dosimeter verwendet werden, um zu kontrollieren, ob die Probe auf dem Transportweg bestrahlt wurde.
- d) Ein vom Dienstleistungslaboratorium bereitgestellter Fragebogen (siehe Anhang C) muss vor Beginn der Blutkultivierungen ausgefüllt und zurückgesandt werden.
- e) Bei biologisch kontaminierten und/oder infektiösen Proben muss das Laboratorium benachrichtigt werden, damit zusätzliche Vorsichtsmaßnahmen bei der Handhabung der Probe getroffen werden können.

6 Verantwortung des Dienstleistungslaboratoriums

6.1 Aufbau und Aufrechterhaltung des Qualitätssicherungsprogramms

Das Dienstleistungslaboratorium muss ein Qualitätssicherungsprogramm (siehe Abschnitt 13) aufbauen und sicherstellen, dass alle Aspekte der Dienstleistung erfasst sind. Das QS-Programm des Laboratoriums muss die folgenden Punkte behandeln:

- a) Es muss regelmäßige interne Überprüfungen der Gerätefunktion, der Eignung der Reagenzien und verschiedene Durchführungsüberprüfungen, d. h. Vergleichsprüfungen innerhalb eines Laboratoriums, Qua-

1 Vacutainer ist ein Beispiel für ein geeignetes handelsübliches Produkt. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produktes durch ISO. Gleichwertige Produkte dürfen verwendet werden, wenn sie nachweislich zu den gleichen Ergebnissen führen.

lifikationen des Bearbeiters, Probenprotokoll, Auswertung, Abschätzungen der Dosis, Berichterstellung usw., enthalten;

- b) Es muss regelmäßige externe Überprüfungen der Arbeitsabläufe des Laboratoriums enthalten. Die externen Audits müssen einen Überblick über die Dokumentation der Gerätefunktion, der Eignung der Reagenzien und verschiedener Leistungsüberprüfungen, d.h. Ringversuche, Qualifikationen des Bearbeiters, Funktionsfähigkeit des Proben transports usw., des Dienstleistungslaboratoriums umfassen.

6.2 Verantwortlichkeit während der Dienstleistung

Das Dienstleistungslaboratorium muss notwendige Anleitungen, Verfahren und fristgerechtes Berichtswesen zur Verfügung stellen, um bei Auftragserteilung eine Dosisabschätzung mittels CBMN-Test liefern zu können. Die Dienstleistungstätigkeiten müssen folgende Aspekte ansprechen:

- a) das Dienstleistungslaboratorium muss über eine Dokumentation verfügen, die von einem qualifizierten Sachverständigen, d.h. Strahlenbiologe eines Dienstleistungslaboratoriums oder einer gleichwertigen Fachkraft, überprüft und bestätigt wurde und Folgendes enthält:
 - 1) ein Formular mit Instruktionen zum Versandungsverfahren, das an den Auftraggeber geschickt wird (siehe Anhang B);
 - 2) einen Fragebogen, der die Zustimmung des Patienten und alle verfügbaren Informationen über den Patienten und die Strahleneinwirkungsszenarien enthalten muss (siehe Anhang C);
 - 3) schrittweises Vorgehen zur Verarbeitung der Blutprobe vom Eingang der Probe bis zur Berichterstattung der Dosis;
- b) das Dienstleistungslaboratorium ist nicht für den Transport der Proben verantwortlich; es sollte jedoch Empfehlungen zum Transport der Proben bereitstellen. Falls gefordert, muss ein Blutentnahmesystem von mindestens 5 ml Vollblut in Röhrchen, das Lithium oder Natriumheparin als Antikoagulans enthält, an den Auftraggeber gesendet werden mit dem entsprechend gekennzeichneten und adressierten Verpackungsmaterial für die Rücksendung der Probe an das Dienstleistungslaboratorium. Die Verpackung muss den nationalen und/oder internationalen Vorschriften für den Transport von potentiell infektiösen pathologischen Proben entsprechen (siehe 13.2.4)
- c) nach dem Eingang der Blutprobe müssen die folgenden Schritte durchgeführt werden:
 - 1) Dokumentieren des Empfangs der Blutprobe (Datum, Zeitpunkt, Empfänger);
 - 2) Überprüfen der Qualität der Probe (Blutvolumen, Unversehrtheit der Röhrchen);
 - 3) Kennzeichnung der Blutprobe mit einem eindeutigen Code;
 - 4) Lagerung der Proben bei Raumtemperatur und Dokumentation des Lagerungsortes bis zum Anlegen der Kulturen;
 - 5) gleichzeitiges Ansetzen von Parallelkulturen so schnell wie möglich und Dokumentieren von Datum, Zeitpunkt und Bearbeiter;
 - 6) Dokumentieren sämtlicher für die Kultivierung verwendeten Reagenzien mit den entsprechenden Chargennummern und Verfallsdaten;
 - 7) Dokumentieren der Zugabe von Reagenzien und des Endes der Kultivierung (Datum, Zeitpunkt, Bearbeiter);
 - 8) Dokumentieren der Kurz- und Langzeitlagerung der Zellprobe bis zum Herstellen der Präparate;