

DIN EN ISO 20046



ICS 13.280

**Strahlenschutz –
Leistungskriterien für Laboratorien, die den
Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierungs-(FISH)-Translokationstest zur
Bewertung der Exposition gegenüber ionisierender Strahlung verwenden
(ISO 20046:2019);
Deutsche Fassung EN ISO 20046:2021**

Radiological protection –
Performance criteria for laboratories using Fluorescence In Situ Hybridization (FISH)
translocation assay for assessment of exposure to ionizing radiation (ISO 20046:2019);
German version EN ISO 20046:2021

Radioprotection –
Critères de performance pour les laboratoires utilisant l'analyse des translocations visualisées
par hybridation in situ fluorescente (FISH) pour évaluer l'exposition aux rayonnements
ionisants (ISO 20046:2019);
Version allemande EN ISO 20046:2021

Gesamtumfang 54 Seiten

DIN-Normenausschuss Radiologie (NAR)

Nationales Vorwort

Der Text von ISO 20046:2019 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 85 „Nuclear energy, nuclear technologies, and radiological protection“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und vom Technischen Komitee CEN/TC 430 „Kernenergie, Kerntechnik und Strahlenschutz“ als EN ISO 20046:2021 übernommen, dessen Sekretariat von AFNOR (Frankreich) gehalten wird.

Das zuständige deutsche 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 5725-1	siehe	DIN ISO 5725-1
ISO 5725-2	siehe	DIN ISO 5725-2
ISO 5725-5	siehe	DIN ISO 5725-5
ISO 13528	siehe	DIN ISO 13528
ISO 17099	siehe	DIN EN ISO 17099
ISO 19238	siehe	DIN EN ISO 19238

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

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 17099, *Strahlenschutz — Durchführungskriterien für Laboratorien für die Anwendung des zytokinese-geblockten Mikrokerntests (cytokinesis-blocked micronucleus, CBMN) in Lymphozyten des menschlichen peripheren Blutes im Rahmen der biologischen Dosimetrie*

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

DIN ISO 5725-1, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Meßverfahren und Meßergebnissen — Teil 1: Allgemeine Grundlagen und Begriffe*

DIN ISO 5725-2, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 2: Grundlegende Methode für Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichpräzision eines vereinheitlichten Messverfahrens*

DIN ISO 5725-5, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 5: Alternative Methoden für die Ermittlung der Präzision eines vereinheitlichten Messverfahrens*

DIN ISO 13528, *Statistische Verfahren für Eignungsprüfungen durch Ringversuche*

Deutsche Fassung

**Strahlenschutz —
Leistungskriterien für Laboratorien, die den Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierungs-(FISH)-Translokationstest zur Bewertung der Exposition gegenüber ionisierender Strahlung verwenden
(ISO 20046:2019)**

Radiological protection —
Performance criteria for laboratories using
Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) translocation
assay for assessment of exposure to ionizing radiation
(ISO 20046:2019)

Radioprotection —
Critères de performance pour les laboratoires utilisant
l'analyse des translocations visualisées par hybridation in
situ fluorescente (FISH) pour évaluer l'exposition aux
rayonnements ionisants (ISO 20046:2019)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 18. Januar 2021 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	6
1 Anwendungsbereich	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 FISH-Translokationsversuch	11
4.1 Allgemeines	11
4.2 Kultivierung und Fixierung	12
4.3 Möglichkeiten der Anfärbung	12
4.4 Bewertung	12
4.5 Allgemeine Anforderung an das Laboratorium	13
5 Verantwortung des Kunden	13
6 Verantwortung des Laboratoriums	14
6.1 Einrichtung und Aufrechterhaltung des Qualitätssicherungsprogramms	14
6.2 Verantwortung während der Dienstleistungserbringung	14
7 Vertraulichkeit personenbezogener Daten	15
7.1 Übersicht	15
7.2 Anwendung des Vertraulichkeitsprinzips	16
7.2.1 Weitergabe von Verantwortungen innerhalb des Laboratoriums	16
7.2.2 Analyseanfragen	16
7.2.3 Weiterleitung vertraulicher Daten	16
7.2.4 Anonymität der Proben	16
7.2.5 Ergebnisbericht	16
7.2.6 Aufbewahrung von Daten und Ergebnisberichten	17
8 Sicherheitsanforderungen im Laboratorium	17
8.1 Übersicht	17
8.2 Mikrobiologische Sicherheitsanforderungen	17
8.3 Chemische Sicherheitsanforderungen	17
8.4 Optische Sicherheitsanforderungen	19
8.5 Sicherheitsplan	19
9 Durchführung der Probenahme	19
9.1 Kultivierung und Anfärbung	19
9.2 Bewertung	20
9.2.1 Bewertungskriterien	20
9.2.2 Umwandlung von Translokationshäufigkeiten in Genomäquivalenzen	21
10 Grundhäufigkeit von Translokationen	21
11 Kalibrierkurven	22
11.1 Kalibrierungsquelle(n)	22
11.2 Festlegen der Kalibrierkurve(n)	22

12	Kriterien für die Umwandlung einer gemessenen Veränderungshäufigkeit in eine Energiedosiseinschätzung	24
12.1	Bestimmung der eingeschätzten Ganzkörper-Energiedosis und der Konfidenzgrenzen	24
12.1.1	Allgemeines	24
12.1.2	Vergleich mit dem Grundpegel: Charakterisierung der erkennbaren Mindestdosis	25
12.1.3	Konfidenzgrenzen der Anzahl von Translokationen	28
12.1.4	Anpassung an die Grundhäufigkeit.....	29
12.1.5	Berechnung der Energiedosis.....	30
12.1.6	Berechnung der Unsicherheit bei der Energiedosis.....	31
12.1.7	Akute und nicht akute Fälle von Strahleneinwirkung.....	32
12.1.8	Andere Strahleneinwirkungsszenarien	32
13	Ergebnisbericht.....	32
13.1	Allgemeines	32
13.2	Inhalt des Berichts (siehe Anhang C für ein Beispiel eines Standardformulars).....	32
13.3	Auswertung der Ergebnisse.....	33
14	Qualitätssicherung und Qualitätskontrolle	34
14.1	Übersicht	34
14.2	Besondere Anforderungen.....	34
14.2.1	Allgemeines	34
14.2.2	Leistungsüberprüfungen durch Vergleiche zwischen Laboratorien.....	34
14.2.3	Leistungsüberprüfung der Qualifikation von bewertenden Personen	34
14.2.4	Leistungsüberprüfung der Probentransportintegrität.....	35
14.2.5	Leistungsüberprüfung der Probenintegrität durch das Dienstleistungslaboratorium.....	35
14.2.6	Leistungsüberprüfung bei der Ausstattung.....	35
14.2.7	Leistungsüberprüfung des Probenprotokolls	36
14.2.8	Leistungsüberprüfung der Probenbewertung	36
14.2.9	Leistungsüberprüfung der Erstellung von Ergebnisberichten.....	36
	Anhang A (informativ) Merkblatt für Kunden zur Probeentnahme.....	37
	Anhang B (informativ) Beispiel für einen Fragebogen.....	39
	Anhang C (informativ) Beispiel für einen Bericht.....	41
	Anhang D (informativ) Beispiele für Datenblätter zur Aufzeichnung angefärbter Veränderungen	42
	Anhang E (informativ) Anpassung der Dosis-Wirkungs-Kurve anhand des Verfahrens der maximalen Wahrscheinlichkeit sowie Berechnung der Unsicherheit von Dosiseinschätzungen	44
	Anhang F (informativ) Prozess der Dosiseinschätzung	45
F.1	Erkennungsgrenze und Nachweisgrenze	45
F.2	Umwandlung in genomäquivalente Werte	46
F.3	Konfidenzgrenzen für das Ergebnis der Translokationen.....	47
F.4	Anpassung an die Grundhäufigkeit.....	48
F.5	Berechnung der Energiedosis und der Unsicherheit	48
F.6	R-Skript zur Berechnung der Erkennungsgrenze	49
	Literaturhinweise.....	51

Europäisches Vorwort

Der Text von ISO 20046:2019 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 85 „Nuclear energy, nuclear technologies, and radiological protection“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und vom Technischen Komitee CEN/TC 430 „Kernenergie, Kerntechnik und Strahlenschutz“ als EN ISO 20046:2021 übernommen, 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 August 2021, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis August 2021 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.

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 20046:2019 wurde von CEN als EN ISO 20046:2021 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-Direktiven, 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-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der erhaltenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

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

Eine Erläuterung zum freiwilligen Charakter von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT) berücksichtigt, enthält der folgende Link: 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*, erarbeitet.

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 ist es, im Rahmen der biologischen Dosimetrie der Einwirkung durch ionisierende Strahlung die Nutzung der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) bei der Analyse der chromosomalen Translokation in humanen peripheren Blut-Lymphozyten festzulegen. Auf der Grundlage der Untersuchungen chromosomaler Veränderungen, hauptsächlich der dizentrischen Chromosomenanalyse (DCA), wurde die biologische Dosimetrie zum Routinebestandteil der Dosisermittlung bei Strahlenunfällen. Allerdings bilden sich dizentrische chromosomale Veränderungen im Nachgang zu einer Strahleneinwirkung nach einiger Zeit wieder zurück, wodurch diese Untersuchung nur kurz nach der Einwirkung sinnvoll ist. Dagegen sind Translokationen von längerer Dauer, was die Dosisermittlung auch längere Zeit nach der Strahleneinwirkung bzw. nach längerer Strahleneinwirkung ermöglicht.

Dieses Dokument dient als Leitfaden für die Durchführung einer Translokationsanalyse mithilfe von FISH zur Dosisermittlung anhand dokumentierter und validierter Verfahren. Hierzu werden die Mindestanforderungen an die Ergebnisse von Translokationsprüfungen in peripheren Blut-Lymphozyten bezeichnet. Genau festgelegt werden dabei die technischen Aspekte der Chromosomenanfärbung (Anzahl der Chromosomen und Art der Anfärbung), die Auswahl der unterschiedlichen Veränderungen und Zellen, die Bewertung von Veränderungen, die Umwandlung der Ergebnisse dieser Veränderungen in eine Dosis, die statistischen Überlegungen, die Probleme bei heterogener, chronischer oder verzögerter Strahleneinwirkung sowie die Extrapolation auf ein vollständiges Genom. Der Einsatz des FISH-Assays bei der Dosisermittlung ist bei der medizinischen Versorgung, beim Strahlungsschutzmanagement, bei der Aktenführung und bei medizinischen/rechtlichen Anforderungen von Belang.

Ein Teil der Informationen in diesem Dokument ist auch in anderen internationalen Leitfäden und wissenschaftlichen Veröffentlichungen enthalten, in erste Linie in den technischen Berichten der Internationalen Atomenergiebehörde (IAEA, en: International Atomic Energy Agency) zur biologischen Dosimetrie. In diesem Dokument werden allerdings die Qualitätssicherung und die Qualitätskontrolle sowie die Bewertung der Leistung ausführlich dargestellt und genormt.

1 Anwendungsbereich

Der Zweck dieses Dokuments ist es, Kriterien für die Qualitätssicherung (QA), für die Qualitätskontrolle (QC) sowie für die Leistungsbewertung der biologischen Dosimetrie durch zytogenetische Service-Laboratorien bereitzustellen.

Dieses Dokument behandelt Folgendes:

- a) Verantwortung des Kunden und des Laboratoriums;
- b) vertraulicher Umgang mit personenbezogenen Daten beim Kunden und im Laboratorium;
- c) Sicherheitsanforderungen im Laboratorium;
- d) Durchführung der Probenahme; Kultivierung, Anfärbung und Bewertung, einschließlich der Kriterien für die Bewertung bei Translokationsanalysen mit FISH;
- e) die für die Bestimmung der Referenzdosis-Kennlinien verwendeten Kalibrierungsquellen und -dosisbereiche, mit denen aus der chromosomalen Veränderungshäufigkeit und der Nachweisgrenze die Dosis eingeschätzt wird;
- f) Bewertungsverfahren für die durch FISH angefärbten Translokationen zur Beurteilung der Strahleneinwirkung;
- g) Kriterien für die Umwandlung einer gemessenen Veränderungshäufigkeit in eine Energiedosis-einschätzung (auch als „Dosis“ bezeichnet);
- h) Angabe der Ergebnisse;
- i) Qualitätssicherung und Qualitätskontrolle;
- j) Anhang A bis Anhang F mit Anweisungen zur Probeentnahme für den Kunden, Musterfragebogen, Musterdatenblatt zur Aufzeichnung der Veränderungen, Musterbericht und Anpassung der Niedrigdosis-Wirkungs-Kurve anhand des Verfahrens der maximalen Wahrscheinlichkeit sowie Berechnung der Unsicherheit von Dosis einschätzungen.

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

Energiedosis

D

Menge der auf ein festgelegtes Material pro Masseinheit übertragenen ionisierenden Strahlungsenergie

3.2

azentrisch

terminales oder interstitielles Chromosomfragment unterschiedlicher Größe ohne Zentromer, wird als überzähliges azentrisches Fragment bezeichnet, wenn es unabhängig von einer Veränderung eines dizentrischen oder zentrischen Ringchromosoms gebildet wird

3.3

Gerinnungshemmer

Medikament, das die Blutgerinnung verhindert

3.4

Grundhäufigkeit

Grundpegel

spontane Häufigkeit (oder Anzahl) von chromosomalen Veränderungen, die in einer allgemeinen Population aufgezeichnet werden

3.5

Lymphozytensuspension, en: buffy coat

Grenzschicht einer mit einem Gerinnungshemmer versetzten Blutprobe nach der Zentrifugierung, die den größten Anteil an weißen Blutzellen enthält

3.6

Kalibrierkurve

grafische oder mathematische Beschreibung der Dosis-Wirkungs-Relation, die aus der In-vitro-Bestrahlung einer Blutprobe zu bekannten Energiedosen abgeleitet wird

Anmerkung 1 zum Begriff: Anhand der Kurve wird durch Interpolation die aufgenommene Strahlungsdosis einer potenziell einer Strahlung ausgesetzten Einzelperson bestimmt.

3.7

Zentromer

Einschnürungsstelle am Chromosom, die während der Zellteilung sichtbar wird und das Chromatidenpaar zusammenhält

3.8

Chromatid

einer der beiden Stränge eines duplizierten Chromosoms, die durch ein einzelnes Zentromer verbunden sind und im Verlauf der Zellteilung abgetrennt werden, sodass zwei einzelne Chromosomen entstehen

3.9

Chromosom

aus einzelnen DNA-Bausteinen und Proteinen bestehende Struktur, welche die genetischen Informationen enthält und während der Kernteilung in die charakteristische Form verdichtet werden

3.10

chromosomale Veränderung

Veränderung der üblichen Struktur eines Chromosoms, die sich auf beide Chromatiden eines einzelnen Chromosoms an einer Position auswirkt, wie dies während der Metaphase beobachtet wird

3.11

Colcemid

Alkaloidverbindung, welche die Ausbildung des Spindelapparats während der Zellteilung hemmt

Anmerkung 1 zum Begriff: Es wird verwendet, um eine große Zahl von Zellen während der Metaphase daran zu hindern, in die Anaphase überzutreten.

3.12

komplexe Veränderung

Veränderung mit drei oder mehr Bruchstellen bei zwei oder mehr Chromosomen, die üblicherweise nach einer Einwirkung von dicht ionisierender Strahlung oder hohen Dosen gering ionisierender Strahlung auftritt

3.13

Konfidenzintervall

Bereich, in dem mit einer angegebenen Wahrscheinlichkeit der wahre Wert einer statistischen Größe liegt

3.14

Kovarianz

Messgröße der Korrelation der Varianz zweier (oder mehrerer) abhängiger Daten- oder Parametersätze

3.15

Erkennungsgrenze

Wert des Schätzers einer Messgröße, dessen Überschreitung durch das Ergebnis einer tatsächlichen Messung mithilfe eines gegebenen Messverfahrens, wobei eine Messgröße für eine physische Wirkung quantifiziert wird, die Beurteilung erlaubt, dass die physische Wirkung vorhanden ist

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Erkennungsgrenze ist so definiert, dass in den Fällen, in denen das Messergebnis y die Erkennungsgrenze y^* überschreitet, die Wahrscheinlichkeit, dass der wahre Größenwert gleich Null ist, kleiner oder gleich einer gewählten Wahrscheinlichkeit α ist.

Anmerkung 2 zum Begriff: Wenn das Ergebnis y unter der Erkennungsgrenze y^* liegt, kann das Ergebnis nicht der physischen Wirkung zugeordnet werden. Daraus folgt allerdings nicht, dass eine physische Wirkung nicht vorhanden sein kann.

3.16

Nachweisgrenze

kleinster wahrer Wert der Messgröße, der mit einer angegebenen Wahrscheinlichkeit zuverlässig durch das Messverfahren erkannt wird

Anmerkung 1 zum Begriff: Unter Berücksichtigung der *Erkennungsgrenze* (3.15) gibt die Nachweisgrenze den kleinsten wahren Wert der Messgröße an, bei dem die Wahrscheinlichkeit, dass der wahre Wert der Messgröße fälschlicherweise mit Null angegeben wird, gleich einem angegebenen Wert β ist. Dies gilt für den Fall, dass der wahre Wert der Messgröße nicht gleich Null ist.

3.17

dizentrisch

aberrantes Chromosom mit zwei Zentromeren, das aus Teilen zweier gebrochener Chromosomen entsteht; im Allgemeinen geht damit die Bildung eines azentrischen Fragments einher

3.18

Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung

FISH

Technik, bei der für bestimmte Teile des Genoms spezifische DNA-Sonden verwendet werden, die durch Bindung mit verschiedenen Fluorochromen die Hervorhebung oder „Anfärbung“ von Chromosomenbereichen mit verschiedenen Farben ermöglicht

3.19

Fluorochrom

Moleküle, die bei entsprechender Anregung fluoreszieren

Anmerkung 1 zum Begriff: Diese werden bei der FISH-Zytogenese verwendet, um bestimmte chromosomale Bereiche hervorzuheben.

3.20

genomäquivalent

Anzahl von Translokationen, die bei Färbung aller Chromosomen beobachtet würden; wird aus der Anzahl von Translokationen errechnet, die mithilfe einer geringeren Anzahl von gefärbten Chromosomen erkannt werden

3.21

Einfügung

Neuanordnung von Chromosomen, bei der ein Stück eines Chromosoms in ein anderes Chromosom eingefügt wird

3.22

Interphase

Abschnitt des Zellzyklus zwischen den mitotischen Kernteilungen

3.23

lineares Energieübertragungsvermögen

LET, en: linear energy transfer

je Einheitenlänge eines durchdrungenen biologischen Materials verlorene Strahlungsenergie

3.24

Metaphase

Stadium der Mitose, in dem sich die Kernmembran auflöst und die Chromosomen auf ihre geringste Länge zusammengezogen und für die Teilung angeordnet werden

3.25

Protokoll für die Veränderungserkennung und Terminologie der Nomenklatur

PAINT, en: protocol for aberration identification and nomenclature terminology

in der FISH-Analyse zur Beschreibung von chromosomalen Veränderungen verwendete Terminologie

3.26

Präzision

Konzept zur Beschreibung der Streuung von Messungen in Bezug auf eine Lagemaßzahl bzw. Kennzahl der zentralen Tendenz angewendeter Begriff

3.27

Eignungsprüfung

Bewertung der Leistung einer teilnehmenden Person anhand vorgegebener Kriterien durch Ringversuche

3.28

Qualitätssicherung

QA, en: quality assurance

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

3.29

Qualitätskontrolle

QC, en: quality control

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

3.30

durch Strahlung verursachte Translokation

diejenigen der beobachteten Translokationen, die einer Strahlungseinwirkung zugeordnet werden können, d. h. nicht durch andere Ursachen entstanden sind (z. B. Alter, Lifestylefaktoren)

3.31

Ring

veränderte Ringchromosomen, die auf eine Verbindung von zwei Brüchen in einem Chromosom zurückzuführen sind

Anmerkung 1 zum Begriff: Ringe können zentrisch oder azentrisch sein.

3.32

Dienstleistungslaboratorium

Laboratorium für die Durchführung von biologischen Dosimetriemessungen

3.33

stabile Veränderung

Veränderung, die für die Zelle nicht letal ist und Tochterzellen vererbt werden kann (z. B. einfache Translokation)

3.34

stabile Zelle

Zelle ohne instabile Veränderungen, die ggf. völlig ungeschädigt ist oder nur stabile Veränderungen aufweist und eine Teilung wahrscheinlich überlebt

3.35

Translokation

stabile chromosomale Veränderung, bei der die Teile von zwei oder mehr Chromosomen ausgetauscht werden

3.36

instabile Veränderung

Veränderung, die für die Zelle letal ist (z. B. dizentrische Chromosomen, zentrische Ringchromosomen, azentrische Fragmente)

4 FISH-Translokationsversuch

4.1 Allgemeines

Die während der Metaphase in kultivierten peripheren Humanblutlymphozyten festgestellte Häufigkeit chromosomaler Veränderungen wird zur Einschätzung der Energiedosis nach einer mutmaßlichen Einwirkung durch ionisierende Strahlung verwendet. Dieses Dokument konzentriert sich auf die nachträgliche Bewertung von früheren oder länger andauernden Strahleneinwirkungen, bei denen, bedingt durch die Zurückbildung der Schäden im Lauf der Zeit, weder die dizentrische Chromosomenanalyse (siehe ISO 19238) noch der zytokinese-geblockte Mikrokerntest (siehe ISO 17099) geeignet sind. Die hier verwendeten Veränderungen sind Translokationen und Einfügungen in stabilen Zellen. Für die Anwendung dieses Dokuments muss das Dienstleistungslaboratorium auswählen, welche Art von Veränderungen bei der Bewertung der Energiedosis zu berücksichtigen ist. Diese Entscheidung muss dann im weiteren Verlauf konsequent umgesetzt werden.

Es gilt allgemein als gesichert, dass aufgrund verschiedener verzerrender Faktoren (z. B. Ernährung, genotoxische Strahleneinwirkung, den Lebensstil betreffende Faktoren, Fehlverteilung von Geschlechtschromosomen) die Grundhäufigkeit von Translokationen bei Einzelpersonen je nach Alter variiert. Dies ist bei Energiedosiseinschätzungen mithilfe von Translokationsanalysen ein wichtiger zu berücksichtigender Punkt.

Nachfolgend werden chromosomale Veränderungen als Translokationen bezeichnet. Es können aber auch je nach Bestimmung durch das Dienstleistungslaboratorium Einfügungen enthalten sein.

4.2 Kultivierung und Fixierung

Ähnlich wie bei ISO 19238 werden Lymphozyten mithilfe eines Verfahrens kultiviert, durch das Erstteilungs-Metaphasen maximiert werden. Hierfür werden Vollblutproben oder von anderen Blutbestandteilen separierte Lymphozyten benötigt, die dann zusammen mit einem Mitogen in einem Kulturmedium inkubiert werden, um die Mitose der Lymphozyten anzuregen. Für die Translokationsanalyse wird eine Zellzykluskontrolle empfohlen. Colcemid, ein die Ausbildung des Spindelapparats während der Zellteilung hemmender Wirkstoff wird hinzugefügt, um während der Metaphase die Teilung der Lymphozyten anzuhalten und diese entnehmen zu können. Sowohl die Dauer der Zellkultivierung als auch der Zeitpunkt der Hinzugabe des Hemmstoffs wurden optimiert, um einen geeigneten mitotischen Index zu erhalten.

Mit einer hypotonischen Kochsalzlösung werden die Metaphasen aus den Kulturen wiederhergestellt und in einer Mischung aus Methanol und Essigsäure fixiert. Die fixierten Zellen werden auf Objektträger aufgebracht und angefärbt. Das vom Dienstleistungslaboratorium verwendete detaillierte Protokoll zur Herstellung der Zellkulturen, zur Entnahme der Metaphasen und zur Anfärbung muss formell dokumentiert werden (siehe Abschnitt 9).

4.3 Möglichkeiten der Anfärbung

Beim FISH-Verfahren müssen die Chromosomen vollständig angefärbt werden. Hierzu können entweder eine Farbe für alle ausgewählten Chromosomenpaare oder zwei oder drei unterschiedliche Farben für je ein ausgewähltes Chromosomenpaar verwendet werden. Die Färbung von drei der größeren Chromosomen deckt etwa 20 % bis 24 % des gesamten menschlichen DNA-Umfangs ab. Allerdings gibt es zahlreiche Möglichkeiten für die Auswahl der Fluorochrome und der für eine Färbung möglicherweise auswählbaren Chromosomen. Es wird empfohlen, dass die ausgewählten Chromosomen einen großen DNA-Umfang abdecken.

Im Folgenden werden einige Beispiele beschrieben:

- a) Färbung von drei Chromosomenpaaren mit einer Farbe (d. h. die Chromosomenpaare 1, 4 und 8 werden mit FITC [grün] eingefärbt);
- b) Färbung von drei Chromosomenpaaren mit drei Farben (d. h. Chromosomenpaar 1 wird mit Texas-Rot [rot], Chromosomenpaar 2 wird mit FITC [grün] und Chromosomenpaar 4 wird mit FITC und Texas-Rot [gelb] eingefärbt).

Dabei ist es möglich, die Anzahl der angefärbten Chromosomenpaare zu erhöhen, um einen größeren Anteil des Genoms zu analysieren. Allerdings ist die Anfärbung einiger weniger Chromosomenpaare in den meisten Fällen ein effizientes Verfahren.

Alle Chromosomen sollten mit einem DNA-Fluoreszenzfarbstoff, wie DAPI (4',6-Diamidin-2-phenylindol) gegengefärbt werden. Der Einsatz einer Pan-Zentromer-Sonde darf ebenfalls in Betracht kommen, ist aber für die Translokationsanalyse nicht erforderlich, sofern die Zentromere eindeutig identifiziert werden können.

4.4 Bewertung

Objektträger mit angefärbten Zellen werden methodisch gescannt, um geeignete Metaphasenzellen zu identifizieren. Die Häufigkeit der in einer angemessenen Anzahl von bewerteten Metaphasenzellen festgestellten Translokationen wird anhand von Verweisen auf Kalibrierungsdaten in eine Einschätzung der Strahlungsdosis umgewandelt.

Es gibt viele Arten von chromosomalen Veränderungen, die mit dem Gesamtchromosom-FISH-Verfahren dargestellt werden können. Zu diesen zählen stabile und instabile Veränderungen, die alle im Verlauf des Bewertungsverfahrens aufgezeichnet werden sollten. Für die Anwendung dieses Dokuments gilt eine Konzentration auf die Bewertung von Translokationen in stabilen Zellen, sodass dieses Verfahren nachträglich zur Analyse von früherer Strahleneinwirkung angewendet werden kann. Es wird daher empfohlen, dass in gegengefärbten Chromosomen festgestellte instabile Veränderungen ebenfalls aufgezeichnet werden, damit bestimmt werden kann, ob die Translokationen in stabilen oder in instabilen Zellen auftreten. Um zu vermeiden, dass die Bewertungsverfahren verzögert werden, kann die Analyse aller gegengefärbten Chromosomen auf die Zellen begrenzt werden, bei denen in den gefärbten Chromosomen stabile Veränderungen sichtbar sind.

Das Dienstleistungslaboratorium muss auswählen, welche Chromosomenpaare und welche Art von Veränderungen für die Bewertung der Energiedosiseinschätzung zu berücksichtigen ist. Diese Entscheidung muss dann im weiteren Verlauf konsequent umgesetzt werden.

Die für die Bewertung ausgewählten Metaphasen sollten gut verteilt sein und vollständig erscheinen.

Derzeit werden verschiedene Klassifizierungssysteme für chromosomale Veränderungen genutzt (z. B. PAINT) [3]. Für die Anwendung dieses Dokuments muss das Dienstleistungslaboratorium auswählen, welche Art von Bewertungsverfahren berücksichtigt wird. Diese Entscheidung muss dann im weiteren Verlauf konsequent umgesetzt werden. Es wird empfohlen, dass sämtliche sichtbaren Schäden aufgezeichnet werden. Es sind aber für die Generierung der Kalibrierkurve und die Bereitstellung der Energiedosiseinschätzung nur die Translokationen in stabilen Zellen zu zählen. Die Angaben zu den Häufigkeiten aller festgestellten Veränderungen ermöglicht eine weiterführende Interpretation der Bedingungen der Strahleneinwirkung.

4.5 Allgemeine Anforderung an das Laboratorium

Das Laboratorium muss mit den erforderlichen Standard-Laborgeräten für Lymphozytenkulturen, Zellenverarbeitung, Objektträgervorbereitung und Fluoreszenzmikroskopie zur Bewertung von Zellen ausgestattet sein. Das Laboratorium sollte außerdem Dokumente zur Qualitätssicherung führen, einschließlich Aufzeichnungen über Kalibrierung und Wartung der erforderlichen und für Zellkulturen verwendeten Ausstattung.

5 Verantwortung des Kunden

Dieser Abschnitt umfasst mehrere Punkte, die nicht vom Laboratorium beeinflusst werden. Vor der Blutentnahme sollte eine Abstimmung zwischen dem Kunden und dem Servicelabor erfolgen. Dem Kunden sollten wesentliche Anforderungen mithilfe eines standardisierten Merkblatts nach der Darstellung in Anhang A erläutert werden. Die wesentlichen Punkte sind:

- a) Die Blutentnahme muss mithilfe eines Entnahmesystems erfolgen, welches als Gerinnungshemmer Lithium- oder Natrium-Heparin verwendet, das entweder vom Dienstleistungslaboratorium bereitgestellt oder von diesem angegeben wird.
- b) Das Blut muss entnommen (idealerweise etwa 10 ml), exakt und eindeutig gekennzeichnet und zwischen 6 °C und 30 °C aufbewahrt werden. Die Übersendung an das Laboratorium muss so schnell wie möglich (idealerweise innerhalb von 48 h) erfolgen.
- c) Um sicherzustellen, dass die Behälter intakt bleiben und Leckagen während des Transports vermieden werden, müssen entsprechende Vorkehrungen getroffen werden. Während des Transports sollte die Umgebungstemperatur der Blutproben zwischen 6 °C und 30 °C liegen. Zur Überwachung der Temperatur während des Transports sollte eine Temperaturaufzeichnung erfolgen. Verpackung und Kennzeichnung müssen nationalen und internationalen Bestimmungen entsprechen. Bei Lufttransport muss

ein physikalisches Dosimeter zur Überwachung einer möglichen Strahlungsbelastung während des Transports der Sendung beigelegt werden.

- d) Ein vom Laboratorium bereitgestellter Fragebogen mit einer Aufstellung insbesondere von vorheriger medizinischer oder arbeitstechnischer Strahleneinwirkung (siehe Anhang B) muss exakt ausgefüllt und unverzüglich zurückgeschickt werden. Eine exakte biologische Dosimetrie ist auf Patienten beschränkt, die zuvor einer unbekannten medizinischen Strahleneinwirkung ausgesetzt wurden.
- e) Das Laboratorium muss über biologisch kontaminierte und/oder infektiöse Proben informiert werden.

6 Verantwortung des Laboratoriums

6.1 Einrichtung und Aufrechterhaltung des Qualitätssicherungsprogramms

Das Laboratorium muss ein Qualitätssicherungsprogramm einrichten und aufrechterhalten (siehe Abschnitt 14), welches alle Aspekte seiner Dienstleistungen umfasst. Ein derartiges Qualitätssicherungsprogramm sollte die folgenden Themen behandeln:

- a) Das Qualitätssicherungsprogramm des Laboratoriums muss periodische interne Überprüfungen zum Umgang mit der Ausstattung, zur Eignung der Reagenzien und zu verschiedenen Leistungsprüfungen beinhalten (d. h. für laboratoriumsinterne Vergleiche, zur Qualifikation von Mitarbeitern, zu Probenahmeprotokollen, zur Bewertung, zur Einschätzung von Energiedosen sowie zur Berichterstellung usw.).
- b) Das Qualitätssicherungsprogramm des Laboratoriums muss regelmäßige externe Prüfungen seines Laboratoriumsbetriebs beinhalten. Die externen Audits müssen eine Überprüfung der Dokumentation des Laboratoriums zum Umgang mit der Ausstattung und zur Eignung der Reagenzien sowie verschiedene Prüfungen der Leistung umfassen (d. h. Vergleiche zwischen Laboratorien, Qualifikation von Mitarbeitern, Unversehrtheit von Proben beim Transport usw.).

Das Laboratorium muss die Häufigkeit der Prüfungen im Rahmen des Qualitätssicherungsprogramms festlegen.

6.2 Verantwortung während der Dienstleistungserbringung

Das Dienstleistungslaboratorium muss erforderliche Leitfäden, Verfahren und Berichterstattung bereitstellen, um auf eine Dienstleistungsanfrage hin Einschätzungen der Energiedosis durch zytogenetische Analysen anbieten zu können. Die Dienstleistungsmaßnahmen müssen die folgenden Punkte berücksichtigen:

- a) Das Laboratorium muss über ein Dokumentationssystem verfügen, das von einer benannten, kompetenten Person geprüft und freigegeben wird und Folgendes umfasst:
 - 1) ein Merkblatt für den Kunden mit einer Beschreibung der Transportverfahren (siehe Anhang A);
 - 2) einen Fragebogen, der die Einverständniserklärung des Patienten und Informationen über eine vollständige oder teilweise Strahleneinwirkung auf den Körper, Strahlungsquelle und -eigenschaften, Umstände und Ort der Einwirkung (Land, Stadt, Unternehmen usw.), Datum und Uhrzeit der Einwirkung, vorangegangene beruflich oder medizinisch bedingte Strahleneinwirkung, Einnahme von Pharmazeutika, Infektionen, Nikotinkonsum sowie signifikante Einwirkungen durch andere DNA-schädigende Wirkstoffe (wie organische Lösemittel oder Schwermetalle) abfragen muss (siehe Anhang B);
 - 3) schrittweise Verfahren für die Verarbeitung der Blutprobe von der Entgegennahme der Probe bis hin zum Bericht über die aufgenommene Strahlungsdosis.

- b) Falls erforderlich, muss dem Kunden ein Blutentnahmesystem (10 ml) mit Lithium- oder Natrium-Heparin als Gerinnungshemmer geschickt werden, einschließlich dem ordnungsgemäß bezeichneten und adressierten Verpackungsmaterial für die Rücksendung der Probe an das Dienstleistungslaboratorium. Die Verpackung muss nationalen und/oder internationalen Bestimmungen für den Transport von potenziell infektiösen pathologischen Proben entsprechen (siehe 14.2.4).
- c) Nach Erhalt der Blutprobe müssen die folgenden Schritte durchgeführt werden:
 - 1) Dokumentation des Erhalts der Blutprobe (Datum, Uhrzeit, Empfänger);
 - 2) Blindcodierung der Blutprobe;
 - 3) Dokumentation des Lagerorts bis zum Beginn der Kultivierung;
 - 4) schnellstmögliche parallele Kultivierung, Dokumentation derselben mit Datum, Uhrzeit und Mitarbeiter;
 - 5) Dokumentation aller für die Kultivierung verwendeten Reagenzien, ggf. mit Chargennummern;
 - 6) Dokumentation der Hinzufügung von Reagenzien und des Endes der Kultivierung (Datum, Uhrzeit, Mitarbeiter);
 - 7) Dokumentation der kurz- und langfristigen Lagerung der Blutprobe bis zur Herstellung des Objektträgers;
 - 8) Dokumentation der Objektträgercodes, Anzahl der Objektträger und Lagerort;
 - 9) Dokumentation der Bewertungsergebnisse;
 - 10) Lagerung der Objektträger und Falldokumente an einem geeigneten Ort über einen vom Laboratorium festgelegten Zeitraum für eine mögliche medizinisch-rechtliche Neubewertung des Falls.
- d) Das Dienstleistungslaboratorium muss die Ergebnisse auswerten und die Berichte erstellen (siehe Anhang C).
- e) Das Dienstleistungslaboratorium muss den Dialog mit der anfordernden Stelle aufrechterhalten, die Fälle nach Bedarf neu priorisieren und der anfordernden Stelle die Ergebnisse zur Verfügung stellen.

7 Vertraulichkeit personenbezogener Daten

7.1 Übersicht

Von einem Laboratorium durchgeführte Untersuchungen zur biologischen Dosimetrie müssen in Übereinstimmung mit den nationalen Bestimmungen zur Vertraulichkeit personenbezogener Daten durchgeführt werden. Dies schließt üblicherweise die Wahrung der Vertraulichkeit der Identität, der medizinischen Daten und des sozialen Status des betreffenden Patienten ein. Darüber hinaus sollten auch die Angaben zum Arbeitgeber des Patienten und zu anderen an einem Strahlenunfall/-zwischenfall beteiligten Organisationen vertraulich behandelt werden.