

DIN EN ISO 19238



ICS 13.280; 17.240

Einsprüche bis 2019-03-04

Entwurf

**Strahlenschutz –
Durchführungskriterien für Service Laboratorien zur Anwendung der
biologischen Dosimetrie mittels zytogenetischer Verfahren
(ISO 19238:2014);
Deutsche und Englische Fassung EN ISO 19238:2017**

Radiological protection –
Performance criteria for service laboratories performing biological dosimetry by cytogenetics
(ISO 19238:2014);
German and English version EN ISO 19238:2017

Radioprotection –
Critères de performance pour les laboratoires de service pratiquant la dosimétrie biologique
par cytogénétique (ISO 19238:2014);
Version allemande et anglaise EN ISO 19238:2017

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2019-01-04 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und
Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs
besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an nar@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Radiologie (NAR), Stresemannallee 15, 60596 Frankfurt am Main.

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten
Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 77 Seiten

DIN-Normenausschuss Radiologie (NAR)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument enthält die deutsche Übersetzung der Norm EN ISO 19238:2017, in den der Inhalt des internationalen Schriftstücks ISO 19238:2014 „Radiological protection — Performance criteria for service“ unverändert übernommen wurde.

Das Internationale Dokument wurde vom ISO/TC 85 „Nuclear energy, nuclear technologies, and radiological protection“, Unterkomitee 2 „Strahlenschutz“, erarbeitet.

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient zur Information der Anwender und bedeutet keine Produktwerbung.

Die Bedeutung der spezifischen ISO-Begriffe und -Bezeichnungen, die sich auf die Feststellung der Regelkonformität beziehen, sowie das von der ISO praktizierte Vorgehen zur Einhaltung der Grundsätze der WTO im Hinblick auf Handelshemmnisse (TBT) sind dargelegt in URL: [http://www.iso.org/iso/home/standards_development /resources-fo-technical-work/foreward.htm](http://www.iso.org/iso/home/standards_development/resources-fo-technical-work/foreward.htm).

Für das vorliegende Dokument ist das nationale Gremium NA 080-00-01 AA „Dosimetrie“ des DIN-Normenausschusses Radiologie (NAR) in Arbeitsgemeinschaft mit der Deutschen Röntgengesellschaft und in Zusammenarbeit mit der Deutschen Gesellschaft für Nuklearmedizin e. V. (DGN), der Deutschen Gesellschaft für Medizinische Physik e. V. (DGMP) und der Deutschen Gesellschaft für Radioonkologie e. V. (DEGRO) zuständig.

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Strahlenschutz — Durchführungskriterien für Service Laboratorien zur Anwendung der biologischen Dosimetrie mittels zytogenetischer Verfahren (ISO 19238:2014)

Radioprotection — Critères de performance pour les laboratoires de service pratiquant la dosimétrie biologique par cytogénétique (ISO 19238:2014)

Radiological protection — Performance criteria for service laboratories performing biological dosimetry by cytogenetics (ISO 19238:2014)

ICS:

Deskriptoren

Dokument-Typ: Europäische Norm

Dokument-Untertyp:

Dokument-Stage: Annahme

Dokument-Sprache: D

STD Version 2.9d

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Vorwort	5
Einleitung	6
1 Anwendungsbereich	7
2 Begriffe	7
3 Dizentrische Chromosomen	9
4 Verantwortung des Auftraggebers	10
5 Verantwortung des Dienstleistungslabors	10
5.1 Aufbau und Aufrechterhaltung des QS-Programms	10
5.2 Verantwortlichkeit während der Dienstleistung	11
6 Vertraulichkeit von persönlichen Angaben	12
6.1 Überblick	12
6.2 Anwendungen des Grundsatzes der Vertraulichkeit	12
6.2.1 Übertragung von Verantwortlichkeiten innerhalb des Laboratoriums	12
6.2.2 Auftragserteilung für Analysen	12
6.2.3 Übermittlung vertraulicher Informationen	12
6.2.4 Anonymität von Proben	13
6.2.5 Berichterstattung der Ergebnisse	13
6.2.6 Aufbewahrung	13
7 Labor-Sicherheitsanforderungen	13
7.1 Überblick	13
7.2 Mikrobiologische Sicherheitsanforderungen	13
7.3 Chemikaliensicherheit	14
7.4 Optische Sicherheitsanforderungen	15
7.5 Sicherheitsplan	15
8 Kalibrierkurve(n)	15
8.1 Kultivierung	15
8.2 Kalibrierquelle(n)	16
8.3 Erstellen der Kalibrierkurve(n)	17
8.4 Messung der kleinsten auflösbaren Dosis	17
9 Bewertung instabiler Chromosomenaberrationen	18
9.1 Verfahren zur Bewertung von Metaphasen der ersten Teilung	18
9.2 Bewertungskriterien	18
9.2.1 Kodierung von Proben und Objektträgern	18
9.2.2 Auswertetechniken	18
9.2.3 Fachkenntnisse des Labors bezüglich der Auswertung	18
10 Kriterien für die Umwandlung der ausgewerteten Häufigkeit an Aberration in eine Abschätzung der absorbierten Dosis	19
10.1 Überblick	19
10.2 Vergleich mit Kontrollen	19
10.3 Prüfung der Verteilung von Aberrationen je Zelle	19
10.4 Bestimmung der abgeschätzten Ganzkörperdosis und des Konfidenzintervalls	20

10.4.1	Allgemeines	20
10.4.2	Konfidenzintervall für die Anzahl dizentrischer Chromosomen.....	20
10.4.3	Konfidenzintervall für die Dosis.....	20
10.5	Fälle nach akuter und nicht akuter Exposition	20
10.6	Fälle von Teilkörperexposition und Vorbelastung.....	21
11	Berichterstattung der Ergebnisse	23
11.1	Allgemeines	23
11.2	Inhalt des Berichts (hinsichtlich eines Standardformulars siehe Anhang C)	23
11.3	Interpretation der Ergebnisse	23
12	Qualitätssicherung und Qualitätskontrolle	24
12.1	Überblick	24
12.2	Spezielle Anforderungen	24
12.2.1	Allgemeines	24
12.2.2	Überprüfungen durch Ringversuche.....	25
12.2.3	Regelmäßige Überprüfung der Auswerterqualifikation	25
12.2.4	Überprüfungen der Integrität des Probentransports.....	25
12.2.5	Überprüfung der Unversehrtheit der Proben durch das Dienstleistungslaboratorium.....	26
12.2.6	Überprüfungen der Geräteausstattung	26
12.2.7	Überprüfungen des Probenprotokolls	26
12.2.8	Überprüfungen der Probenauswertung	26
12.2.9	Überprüfungen der Dosisabschätzung und des Konfidenzbereichs	26
12.2.10	Überprüfungen der Zusammenstellung des Ergebnisberichts.....	26
Anhang A (informativ)	Musteranweisungen für Auftraggeber	28
Anhang B (informativ)	Musterfragebogen.....	29
Anhang C (informativ)	Muster für einen Bericht.....	31
Anhang D (informativ)	Anpassung der Dosis-Wirkungs-Kurve bei Niedrig-LET nach dem Maximum-Likelihood-Verfahren und Berechnung des Fehlers des Schätzwerts für die Dosis.....	32
D.1	Anpassungsverfahren	32
Anhang E (informativ)	Verfahren zur Bestimmung des Chancenverhältnisses (Odds-Ratio) für Fälle einer vermuteten Exposition mit niedriger Dosis.....	35
Anhang F (informativ)	Auswerteprotokoll zur Dokumentation von Aberrationen	37
Literaturhinweise.....		38

Europäisches Vorwort

Der Text von ISO 19238:2014 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 85 „Nuclear energy, nuclear technologies, and radiological protection“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und als EN ISO 19238:2017 durch das Technische Komitee CEN/TC 430 „Kernenergie, Kerntechnik und Strahlenschutz“ übernommen, dessen Sekretariat vom AFNOR gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis April 2018, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis April 2018 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können, ohne dass diese vorstehend identifiziert wurden. 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 ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien, 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 19238:2014 wurde von CEN als EN ISO 19238:2017 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung von Nationalen Normungsorganisationen (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird normalerweise von ISO Technischen Komitees 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 Organisationen, staatlich und nicht-staatlich, in Liaison mit ISO, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) bei allen elektrotechnischen Themen 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. Im Besonderen sollten die für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten notwendigen Annahmekriterien 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 empfangenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname wird als Information zum Nutzen der Anwender angegeben und stellt keine Anerkennung dar.

Das für dieses Dokument verantwortliche Komitee ist ISO/TC 85, *Nuclear energy, nuclear technologies, and radiological protection*, Unterkomitee SC 2, *Radiological protection*.

Diese zweite Ausgabe ersetzt die erste Ausgabe (ISO 19238:2004), die geringfügig überarbeitet wurde.

Einleitung

Die breite Nutzung ionisierender Strahlungen für medizinische, industrielle, landwirtschaftliche, Forschungs- und militärische Zwecke erhöht das Risiko einer Strahlenbelastung von beruflich exponierten Arbeitnehmern und Einzelpersonen der Allgemeinbevölkerung. Die biologische Dosimetrie auf der Grundlage der Untersuchung chromosomaler Aberrationen, hauptsächlich der dizentrischen Chromosomenanalyse, wurde zu einem routinemäßigen Bestandteil der unfallbedingten Dosisbestimmung. Erfahrung bei der Anwendung in hunderten von Fällen von vermuteter oder nachgewiesener Überexposition hat den Nutzen dieses Verfahrens unter Beweis gestellt und auch seine Anwendungsgrenzen definiert. Es sollte hervorgehoben werden, dass die zytogenetische Analyse als ein Dosimeter eingesetzt wird und einen Beitrag zur Sammlung von Informationen liefert, die für die Beurteilung eines radiologischen Unfalls notwendig sind.

Viele Untersuchungen an Tieren und Menschen haben gezeigt, dass zwischen den in *in vivo* und *in vitro* erhaltenen Ergebnissen eine gute Korrelation hergestellt werden kann, so dass *in vitro* ermittelte Dosis-Wirkungs-Beziehungen von bestrahlten Blutproben als Kalibrierkurven verwendet werden können. Die Anzahl an dizentrischen Chromosomen hängt von der Strahlungsqualität und Dosisleistung ab, so dass es notwendig ist, Angaben über diese Variablen für jede erstellte Kalibrierkurve festzulegen. Falls bekannt, sind diese Expositionskenntwerte wichtig für das Verbessern der Dosisabschätzung im Falle einer vermuteten Strahlenexposition. Die Spezifität dieser Technik wird durch die Tatsache erhöht, dass in der Normalbevölkerung im Allgemeinen ein dizentrisches Chromosom je 1 000 Metaphasen beobachtet wird und dass diese Häufigkeit annähernd unabhängig von Alter und Geschlecht ist. Die Präzision der Technik hängt somit von der Anzahl der beobachteten Zellen, dem Hintergrundwert und der verwendeten Kalibrierkurve ab. Theoretisch ist es möglich, eine Exposition ab 0,01 Gy nachzuweisen. Bei diesen geringen Dosen ist es jedoch notwendig, Zehntausende Metaphasen zu analysieren. In der Praxis ist diese Nachweisempfindlichkeit weder praktisch durchführbar noch notwendig. Die obere Grenze der Dosisermittlung reicht in den Bereich der für Menschen tödlichen Strahlendosen hinein.

Der Hauptzweck dieser Internationalen Norm ist die Bereitstellung einer Leitlinie für alle Laboratorien zur Durchführung der Analyse dizentrischer Chromosomen unter Anwendung dokumentierter und validierter Verfahren. Zweitens kann sie den Vergleich von Ergebnissen erleichtern, die in verschiedenen Laboratorien, insbesondere bei internationaler Zusammenarbeit oder Vergleichsprüfungen (Ringversuchen), erhalten wurden. Letztendlich sollten Laboratorien, die neu mit der Durchführung der Prüfung auf dizentrische Chromosomen beauftragt sind, dieser Internationalen Norm entsprechen, um die Prüfung reproduzierbar und genau durchzuführen.

Diese Internationale Norm ist in Form von Verfahrensabläufen verfasst, die für die Durchführung der biologischen Dosimetrie bei einigen wenigen potentiell Strahlenexponierten angewendet werden. Die für derartige Auswertungen erforderlichen Kriterien hängen üblicherweise vom Anwendungsgebiet der Ergebnisse ab: Strahlenschutzmanagement, gegebenenfalls medizinisches Management, Führen von Aufzeichnungen und gesetzliche Anforderungen. In der speziellen Situation eines Massenunfalls mit einer großen Anzahl von potentiell Strahlenexponierten und begrenzten Ressourcen kann die Technik für Notfallanalysen zur Ersteinschätzung (Triage) angewendet werden. Die standardmäßig empfohlenen Auswertekriterien würden dann der Situation entsprechend angepasst werden.

Ein Teil der Informationen dieser Internationalen Norm ist in anderen internationalen Leitlinien und wissenschaftlichen Veröffentlichungen enthalten, vor allem in der Reihe Technischer Berichte der Internationalen Atomenergie-Organisation (en: International Atomic Energy Agency, IAEA) zur biologischen Dosimetrie. Diese Internationale Norm erweitert und standardisiert jedoch vor allem die Qualitätssicherung und Qualitätskontrolle, Kriterien für die Akkreditierung und die Einschätzung der Durchführung. Diese Internationale Norm stimmt weitgehend mit ISO/IEC 17025 überein, unter besonderer Berücksichtigung der spezifischen Anforderungen der biologischen Dosimetrie. Die in dieser Internationalen Norm angeführte Angabe der Unsicherheiten bei der Dosisabschätzung entspricht dem ISO Guide zur Bestimmung der Messunsicherheit (ISO/IEC Guide 98–1) und ISO 5725 zur Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm stellt Kriterien für die Qualitätssicherung und Qualitätskontrolle, Validierung der Durchführung und Akkreditierung der biologischen Dosimetrie durch zytogenetische Dienstleistungslaboratorien bereit.

Diese Internationale Norm behandelt

- a) die Vertraulichkeit von persönlichen Angaben, in Bezug auf den Auftraggeber und das Service Labor,
- b) die Labor-Sicherheitsanforderungen,
- c) die sinnvollen Kalibrierquellen (Kalibrierstrahler) und Kalibrierdosisbereiche zur Erstellung der Referenz-Dosis-Wirkungs-Kurven, die zur Dosisabschätzung anhand der Häufigkeit von Chromosomenaberrationen beitragen, und die niedrigsten nachweisbaren Dosen,
- d) das Auswerteverfahren für instabile Chromosomenaberrationen, die für die biologische Dosimetrie verwendet werden,
- e) die Kriterien für die Abschätzung der absorbierten Dosis, anhand der Häufigkeit von beobachteten Aberrationen,
- f) die Berichterstattung der Ergebnisse,
- g) die Qualitätssicherung und Qualitätskontrolle,
- h) informative Anhänge, Musteranweisungen für Auftraggeber, Musterfragebogen, Musterbericht, Anpassung der Niedrigdosis-Wirkungs-Kurve nach dem Maximum-Likelihood-Verfahren und Berechnung des Fehlers der Dosisschätzung, odds ratio Verfahren für Fälle einer vermuteten Exposition mit geringer Dosis, sowie ein Musterdatenblatt für die Erfassung der Aberrationen.

2 Begriffe

Für die Anwendung dieser Norm gelten die folgenden Begriffe.

2.1

azentrisches Fragment

terminales oder interstitielles Chromosomenfragment unterschiedlicher Größe, bezeichnet als überzähliges azentrisches Fragment, wenn es unabhängig von einem dizentrischen Chromosom oder zentrischen Ringchromosom gebildet wird

2.2

Hintergrundlevel

spontane Häufigkeit (oder Anzahl) von Chromosomenaberrationen, die in Kontrollproben oder -individuen gefunden wurde

2.3

Bias-Verzerrung

statistischer Fehler bei der Schätzung oder der Stichprobenauswahl, bedingt durch systematische Bevorzugung einiger Ergebnisse gegenüber anderen

2.4

zentrisches Ringchromosom

aberrantes ringförmiges Chromosom, das sich durch die Vereinigung zweier Buchstellen gegenüberliegender Chromosomenarmen desselben Chromosoms entsteht

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

2.5

Centromer

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

2.6

Konfidenzintervall

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

2.7

Chromosom

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

2.8

Chromatid

einer der beiden Stränge eines duplizierten Chromosoms, die durch ein einzelnes Centromer verbunden sind und während der Zellteilung getrennt werden, um nach Verdopplung wieder zu einem Chromosom zu werden

2.9

dizentrisches Chromosom

aberrantes Chromosom mit zwei Centromeren, das aus Teilen zweier gebrochener Chromosomen entsteht

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

2.10

FISH

Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung

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 ermöglichen

2.11

Interphase

Abschnitt des Zellzyklus zwischen der mitotischen Kernteilung

2.12

LET

linearer Energietransfer

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

2.13

unterer Schwellenwert der Dosis

kleinste messbare Größe (z. B. Häufigkeit oder Dosis) welche nachgewiesen werden kann, wobei die Wahrscheinlichkeit, dass die Größe fälschlicherweise nicht nachgewiesen wird, durch β (Fehler 2. Art) und die Wahrscheinlichkeit einer falsch positiven Entscheidung - Nachweis einer positive Größe (von null verschiedenen) in einer Kontrollprobe - durch α gegeben ist

2.14

Metaphase

Abschnitt der Mitose, in der die Kernmembran aufgelöst wird, die Chromosomen maximal verkürzt und für die Teilung ausgerichtet sind

2.15

kleinste auflösbare Dosis

kleinste zusätzliche Dosis, für die das untere 95 %-Poisson Konfidenzintervall größer als 0 ist, so dass eine Wahrscheinlichkeit von 97,5 % besteht, dass die über den normalen Hintergrundwert hinaus erhaltene Dosis größer als 0 ist

2.16

Präzision

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

2.17

Qualitätssicherung

geeignete, systematische Maßnahmen, um mit angemessenem Vertrauen sicher zu stellen, dass ein Prozess, eine Analyse oder Dienstleistung die Qualitätsanforderungen erfüllt, wie sie zum Beispiel in einem Vertrag festgelegt wurde

2.18

Qualitätskontrolle

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

2.19

Dienstleistungslaboratorium

Laboratorium, das biologische Dosimetrieanalysen durchführt

3 Dizentrische Chromosomen

Die Auswertung der Häufigkeit von instabilen chromosomalen Aberrationen in der Metaphase kultivierter menschlicher peripherer Blut-Lymphozyten ist die Methode der Wahl im Rahmen der biologischen Dosimetrie. Von den beobachteten Chromosomenaberrationen werden dizentrische Chromosomen oder dizentrische Chromosomen und zentrische Ringchromosomen verwendet. Das Dienstleistungslaboratorium muss für die Anwendung dieser Internationalen Norm wählen, welche Art von Aberrationen für die Dosisabschätzung verwendet werden, und diese Wahl muss durchgehend beibehalten werden. Im Folgenden werden Chromosomenaberrationen als dizentrische Chromosomen bezeichnet, dies schließt jedoch zentrische Ringchromosomen mit ein, sofern dies vom Dienstleistungslaboratorium festgelegt wurde.

Lymphozyten werden nach einem Verfahren kultiviert, das es erlaubt, die Metaphasen in der ersten Teilung bei der Analyse zu erkennen (siehe 9.1). Das erfordert, dass Vollblut oder isolierte Lymphozyten in einem Kulturmedium inkubiert werden, das die Beurteilung von Zellen in der Metaphase der ersten Generation ermöglicht. Ein Mitosehemmer, Colcemid oder Colchicin, wird hinzugefügt, um die sich teilenden Lymphozyten in der Metaphase zu arretieren. Die Dauer der Zellkultivierung und der Zeitpunkt der Zugabe

des Spindelgifts sind optimiert, um einen angemessenen Mitose-Index und das Dominieren von Metaphasen der ersten Teilung sicherzustellen.

Die Metaphasen werden nach Zentrifugation, Zugabe einer hypotonischen Salzlösung und Fixierung in einem Gemisch aus Alkohol und Essigsäure aus den Kulturen gewonnen. Die fixierten Zellen werden auf Objektträger gegeben und gefärbt. Die genaue von einem Dienstleistungslaboratorium angewendete Vorschrift für das Anlegen der Zellkultur, das Abernten der Metaphasen und das Färben muss formal dokumentiert werden (siehe Abschnitt 12).

Objektträger mit gefärbten Zellen werden systematisch unter dem Mikroskop gescannt, um geeignete Metaphasen in der ersten Teilung für die Auswertung dizentrischer Aberrationen zu identifizieren (siehe 9.2). Die Häufigkeit der dizentrischen Chromosomen, die in einer angemessenen Anzahl von ausgewerteten Metaphasen beobachtet wird, wird unter Verwendung von Kalibrierdaten in eine Dosisabschätzung überführt (siehe Abschnitt 10).

4 Verantwortung des Auftraggebers

Dieser Abschnitt enthält Elemente, die nicht vom Dienstleistungslaboratorium kontrolliert werden. Vor der Blutentnahme sollte eine Absprache zwischen dem Auftraggeber und dem Dienstleistungslaboratorium stattfinden. Wesentliche Anforderungen sollten dem Auftraggeber erläutert werden; das kann in Form eines standardisierten Anweisungsformulars, wie in Anhang A dargestellt, erfolgen. Die wichtigsten Besonderheiten sind:

- a) Bei der Blutentnahme sollte das Entnahmesystem mit Lithiumheparin als Antikoagulans verwendet werden, welches vom Dienstleistungslaboratorium zugesendet oder spezifiziert wurde.
- b) Das Blut sollte entnommen (idealerweise etwa 10 ml), klar und eindeutig gekennzeichnet, bei Raumtemperatur (ungefähr 20 °C) gelagert und so bald wie möglich an das Dienstleistungslaboratorium gesendet werden.
- c) Vorsichtsmaßnahmen um die Unversehrtheit des Behälters sicher zu stellen und das Austreten des Inhalts während des Transports zu verhindern, müssen beachtet werden. Blutproben sollten während des Transports innerhalb des empfohlenen Temperaturbereichs (d. h. 6 °C bis 30 °C) gelagert werden. Eine Temperaturaufzeichnung während des Transports kann zur Dokumentation verwendet werden. Verpackung und Kennzeichnung müssen nationalen und internationalen Vorschriften entsprechen. Bei einem Transport auf dem Luftweg, kann ein physikalisches Dosimeter verwendet werden, um zu kontrollieren, ob die Probe auf dem Transportweg bestrahlt wurde.
- d) Ein vom Dienstleistungslaboratorium bereitgestellter Fragebogen sollte ausgefüllt und unverzüglich zurückgesandt werden.
- e) Das Dienstleistungslaboratorium sollte über biologisch kontaminierten Proben unverzüglich benachrichtigt werden.

5 Verantwortung des Dienstleistungslabors

5.1 Aufbau und Aufrechterhaltung des QS-Programms

Das Dienstleistungslaboratorium muss ein QS-Programm (siehe Abschnitt 12) aufbauen und sicherstellen, dass alle Aspekte der Dienstleistung erfasst sind. Das QS-Programm sollte die folgenden Punkte behandeln:

- a) Das QS-Programm des Laboratoriums soll regelmäßige interne Überprüfungen der Gerätefunktion, der Eignung der Reagenzien und verschiedene Durchführungsüberprüfungen (d. h. Vergleichsprüfungen innerhalb eines Laboratoriums, Qualifikationen des Bearbeiters, Probenprotokoll, Auswertung, Abschätzungen der Dosis, Berichterstellung usw.) enthalten.

- b) Das QS-Programm des Laboratoriums soll regelmäßige externe Überprüfungen der Arbeitsabläufe des Laboratoriums enthalten. Die externen Audits sollen einen Überblick über die Dokumentation der Gerätefunktion, der Eignung der Reagenzien und verschiedener Leistungsüberprüfungen (d. h. Ringversuche, Qualifikationen des Bearbeiters, Funktionsfähigkeit des Probenverkehrs usw.) des Dienstleistungslaboratoriums umfassen.

5.2 Verantwortlichkeit während der Dienstleistung

Das Dienstleistungslaboratorium muss notwendige Anleitungen, Methoden und Berichtswesen bereitstellen, um eine Dosisabschätzung mittels zytogentischer Verfahren bei einer Dienstleistungsanfrage zu leisten. Die Dienstleistungstätigkeiten müssen folgende Aspekte berücksichtigen:

- a) Das Dienstleistungslaboratorium muss über eine Dokumentation verfügen, die von einem qualifizierten Sachverständigen (d. h. Strahlenbiologe eines Dienstleistungslaboratoriums oder eine gleichwertige Fachkraft) überprüft und bestätigt wurde und Folgendes berücksichtigt:
- 1) eine an den Auftraggeber zu sendende Anweisung, die das Versandverfahren beschreibt (Anhang A);
 - 2) ein Formular, aus dem das Einverständnis des Patienten sowie Informationen über Ganz- oder Teilkörperexposition, Strahlenquelle und Qualität, Umstände der Exposition, Expositionsort (Land, Stadt, Unternehmen usw.), Datum und Zeitpunkt der Exposition, frühere berufsbedingte oder medizinische Strahlenexpositionen, Einnahme von Arzneimitteln, Infektionen, Rauchgewohnheit und signifikante Expositionen gegenüber beliebigen anderen DNA-schädigenden Wirkstoffen (wie z. B. organische Lösungsmittel oder Schwermetalle) hervorgeht (Anhang B);
 - 3) Schritt für Schritt Vorgehen der Blutprobenverarbeitung, vom Eingang der Probe bis zur Angabe der Dosis im Bericht.
- b) Falls gefordert, muss ein Blutentnahmesystem (10 ml), das Lithiumheparin als Antikoagulant enthält, mit dem entsprechend gekennzeichneten und adressierten Verpackungsmaterial für die Rücksendung der Probe an das Dienstleistungslaboratorium an den Auftraggeber gesendet werden. Die Verpackung muss den nationalen und/oder internationalen Vorschriften für die Durchführung von potentiell infektiösen pathologischen Proben entsprechen (siehe 12.2.4).
- c) Nach dem Eingang der Blutprobe müssen die folgenden Schritte durchgeführt werden:
- 1) Dokumentieren des Empfangs der Blutprobe (Datum, Zeitpunkt, Empfänger).
 - 2) Codieren der Blutprobe.
 - 3) Dokumentieren des Orts der Lagerung bis zum Anlegen von Kulturen.
 - 4) Anlegen von parallelen Kulturen so schnell wie möglich und Dokumentation von Datum, Zeitpunkt und Bearbeiter.
 - 5) Dokumentieren sämtlicher für die Kultivierung verwendeten Reagenzien mit den entsprechenden Chargennummern.
 - 6) Dokumentieren der Zugabe von Reagenzien und des Endes der Kultivierung (Datum, Zeitpunkt, Bearbeiter).
 - 7) Dokumentieren der Kurz- und Langzeitlagerung der Probe bis zum Herstellen der Objektträger.
 - 8) Dokumentieren der Objektträgercodes, der Anzahl der Objektträger und des Orts der Aufbewahrung.

- 9) Dokumentation der Ergebnisse aus der Auswertung.
- 10) Aufbewahrung der Objektträger und fallbezogenen Dokumente an einem geeigneten Ort für mindestens 30 Jahre für eine mögliche rechtsmedizinische Neubewertung des Falls.
- d) Das Dienstleistungslaboratorium muss die Ergebnisse interpretieren und Berichte erstellen (Anhang C).
- e) Das Dienstleistungslaboratorium soll den Dialog mit dem Auftraggeber aufrechterhalten, wobei die Prioritäten von Fällen, falls gefordert, neu festgelegt und die Ergebnisse dem Auftraggeber übermittelt werden.

6 Vertraulichkeit von persönlichen Angaben

6.1 Überblick

Von einem Dienstleistungslaboratorium durchgeführte Untersuchungen im Rahmen der biologischen Dosimetrie müssen in Übereinstimmung mit nationalen Vorschriften zur Vertraulichkeit erfolgen. Das schließt üblicherweise die Wahrung der Vertraulichkeit der Identität des Patienten, der medizinischen Daten und der sozialen Stellung ein. Außerdem sollte das Geschäftsgeheimnis des Arbeitgebers des Patienten und beliebiger anderer Organisationen beachtet werden, die von einem radiologischen Unfall/Störfall betroffen sind.

Diese Anforderung erstreckt sich 1) auf schriftliche, elektronische oder mündliche Kommunikationen zwischen dem Laboratorium und der Person/Organisation, die die Analyse beantragt und den Bericht erhält, und 2) auf den sicheren Schutz von vertraulichen Informationen in der Organisation, in der das Dienstleistungslaboratorium ansässig ist.

6.2 Anwendungen des Grundsatzes der Vertraulichkeit

6.2.1 Übertragung von Verantwortlichkeiten innerhalb des Laboratoriums

Der Leiter des Laboratoriums darf eine begrenzte Anzahl von Labormitarbeitern die Befugnis zum Umgang mit Dokumenten erteilen, die mit der Analyse verbunden sind. Personen mit dieser Befugnis müssen eine Vertraulichkeitsverpflichtung hinsichtlich ihrer Aufgaben innerhalb des Laboratoriums unterzeichnet haben.

Der Leiter des Laboratoriums muss die unterzeichneten Vertraulichkeitsvereinbarungen aufbewahren und die Sicherheit und den Schutz aller vertraulichen Dokumente sicherstellen.

6.2.2 Auftragserteilung für Analysen

In Abhängigkeit von nationalen Vorschriften sollte der Auftrag für eine Analyse üblicherweise durch einen Arzt, der den Patienten vertritt, durch den/die Patienten/Patientin selbst gestellt werden oder aufgrund von Rechtsansprüchen angefordert werden. In allen Fällen muss die Blutentnahme für eine Chromosomenanalyse 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.

6.2.3 Übermittlung vertraulicher Informationen

Während es Austauschs von Informationen und Berichten zwischen dem Dienstleistungslaboratorium und dem Auftraggeber der Analyse muss die Vertraulichkeit unabhängig vom gewählten Kommunikationsmittel sichergestellt sein.

Der Leiter des Laboratoriums muss alle Abläufe für die Übermittlung von Informationen und die Sicherstellung der Vertraulichkeit festlegen.

6.2.4 Anonymität von Proben

Der Leiter des Laboratoriums muss Arbeitsvorschriften zur Wahrung der Anonymität der Proben festlegen. Um eine Identifikation des Patienten bei gleichzeitiger Sicherstellung der Rückverfolgbarkeit der Analyse zu vermeiden, sollten die Blutproben beim Eintreffen im Dienstleistungslaboratorium codiert werden. Die Codierung erfolgt in eindeutiger Weise nach einem standardisierten Verfahren. Bei allen Stufen der Analyse ist derselbe Code zu verwenden. Der Code wird von einer befugten Person, wie in 6.2.1 festgelegt, zugewiesen. Die Decodierung, Auswertung der Ergebnisse und Erstellung des Berichts sind auch durch eine befugte Person durchzuführen.

6.2.5 Berichterstattung der Ergebnisse

Der Abschlussbericht, der die Ergebnisse und (bei Bedarf) deren Interpretation enthält, wird dem Auftraggeber der Analyse mitgeteilt. In Abhängigkeit von den nationalen Bestimmungen dürfen, mit entsprechenden Genehmigungen, weitere Kopien an andere verantwortlichen Personen weitergegeben werden.

6.2.6 Aufbewahrung

Der Leiter des Laboratoriums muss festlegen, wie Daten und Ergebnisse aufbewahrt werden. Alle einen Fall betreffende Laborunterlagen, die die Identifizierung des Patienten und/oder Arbeitgebers zulassen könnten, müssen an einem Ort aufbewahrt werden, der nur befugten Personen zugänglich ist. Dokumente müssen an einem geeigneten Ort für mindestens 30 Jahre für eine mögliche rechtsmedizinische Neubewertung des Falls aufbewahrt werden. Die endgültige Entsorgung muss durch sichere Mittel, wie z. B. Schreddern, erfolgen.

7 Labor-Sicherheitsanforderungen

7.1 Überblick

Das Personal muss die nationale Gesetzgebung und institutionelle Vorschriften in Bezug auf Sicherheit in den Laboratorien einhalten. Hinsichtlich der Sicherheit in Dienstleistungslaboratorien gibt es einige Besonderheiten, die hervorzuheben sind. Dazu gehören mikrobiologische, chemische und optische Aspekte.

7.2 Mikrobiologische Sicherheitsanforderungen

Der Umgang mit menschlichem Blut birgt ein gewisses Risiko durch aus dem Blut übertragbare Parasiten und Infektionen auf das Laborpersonal. Sämtliche Proben sollten als potentiell infektiös betrachtet werden, selbst wenn sie bekanntermaßen von scheinbar gesunden Personen stammen. Die Proben müssen in einer mikrobiologischen Sicherheitswerkbank der Klasse 2 ausgepackt und gehandhabt werden. Das Anlegen von Kulturen in einer derartigen Sicherheitswerkbank hat den zusätzlichen Vorteil, dass ein Kulturversagen durch mikrobielle Kontamination auf ein Mindestmaß verringert wird. Der Einsatz von spitzen Gegenständen, z. B. Injektionsnadeln, sollte auf ein Mindestmaß beschränkt werden, um das Risiko von Verletzungen zu verringern. Im Falle von verschüttetem Material muss geeignetes Desinfektionsmittel zur Verfügung stehen. Alle biologischen Abfälle und Kunststoffwaren zum Einmalgebrauch müssen vor der endgültigen Entsorgung sterilisiert werden, zum Beispiel durch Autoklavieren oder Verbrennen.

Dem Personal sollten mögliche Impfungen gegen durch Blut übertragbare Krankheiten angeboten werden. Die rechtlichen und ethischen Positionen in Bezug auf die Untersuchung von Blutproben beim Eintreffen auf HIV unterscheiden sich zwischen den Ländern und Wissenschaftler sollten sich nach ihren jeweiligen nationalen Anforderungen richten. Es sollte beachtet werden, dass, wenn Blutproben aus dem Ausland angenommen werden, die Fluggesellschaften, in Abhängigkeit vom Herkunftsland, möglicherweise vom Absender die Vorlage eines Zertifikats verlangen, das bestätigt, dass die Proben untersucht wurden und HIV-negativ sind.

7.3 Chemikaliensicherheit

Im Rahmen dieser Norm behandelte Verfahren werden routinemäßig bestimmte Chemikalien und Arzneimittel verwendet. Liegen sie in Kulturen vor oder werden bei Färbeverfahren eingesetzt, verwendet man sie meistens in kleinen Volumina und in Verdünnungen, die im Allgemeinen keine Gesundheitsgefährdung darstellen. Sie werden jedoch in konzentrierten Stammlösungen hergestellt und aufbewahrt. Die bedenklichsten Chemikalien und ihre international vereinbarte Gefahrenhinweise (H-Sätze) nach dem GHS-Einstufungssystem sind nachstehend aufgeführt:

Essigsäure	H226, H290, H314
Benzylpenicillin	H317, H334
Bromdesoxyuridin (BrdU)	H351
Colcemid (Demecolcin)	H300, H361
Cytochalasin B	H300, H310, H330, H361
Giemsa-Färbemittel	H225, H301, H311, H331, H370
Heparin	H315, H319, H334
Hoechst-Färbemittel (Bisbenzimid)	H302, H315, H319
Methanol	H225, H301, H311, H331, H370
Phytohämagglutinin	H302, H317, H332
Streptomycinsulfat	H302, H332, H317, H334, H361

Legende

H225:	Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar
H226	Flüssigkeit und Dampf entzündbar
H290:	Kann gegenüber Metallen korrosiv sein
H300:	Lebensgefahr bei Verschlucken
H301:	Giftig bei Verschlucken
H302:	Gesundheitsschädlich bei Verschlucken
H310:	Lebensgefahr bei Hautkontakt
H311:	Giftig bei Hautkontakt
H314:	Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden
H315:	Verursacht Hautreizungen
H317:	Kann allergische Hautreaktionen verursachen
H319:	Verursacht schwere Augenreizung

- H330: Lebensgefahr bei Einatmen
- H331: Giftig bei Einatmen
- H332: Gesundheitsschädlich bei Einatmen
- H334: Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen
- H351: Kann vermutlich Krebs erzeugen
- H361: Kann vermutlich die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen
- H370: Schädigt die Organe

7.4 Optische Sicherheitsanforderungen

Wenn zum Sterilisieren des Innenraums von mikrobiologischen Sicherheitswerkbänken oder Bestrahlen von Objektträgern beim Fluoreszenz-plus-Giemsa (FPG)-Färbeverfahren UV-Lampen eingesetzt werden, müssen Schutzmaßnahmen und Arbeitsabläufe vorhanden sein, um eine direkte Bestrahlung der Haut oder Augen des Laborpersonals zu vermeiden.

7.5 Sicherheitsplan

Der Leiter des Laboratoriums muss schriftliche Sicherheitsmaßnahmen zum Schutz vor mikrobiologischen, chemischen und optischen Gefährdungen festlegen.

Der Leiter des Laboratoriums muss Aufzeichnungen von Unfällen und Vorschriften oder Verfahrensweisen aufbewahren, um eine Wiederholung ähnlicher Unfälle zu vermeiden.

8 Kalibrierkurve(n)

8.1 Kultivierung

Für die Erstellung der Kalibrierkurve müssen die gleichen Kultivierungsbedingungen angewendet werden wie für die Analyse von Aberrationen im Fall einer vermuteten Überbelastung.

Die genaue Vorschrift für die Durchführung der dizentrischen Chromosomen Analyse muss von jedem Dienstleistungslaboratorium erarbeitet werden, wobei es mehrere kritische Aspekte gibt, die wie nachstehend beschrieben, beachtet müssen:

- Das Blut muss unmittelbar nach der Bestrahlung und vor der Kultivierung für mindestens 2 h bei 37 °C inkubiert werden.
- Die Zellen müssen bei 37 °C ± 0,5 °C entweder als Vollblut, als eine angereicherte Lymphozyten-suspension („Buffy-Coat“) oder als isolierte Lymphozyten kultiviert werden.
- Das Kulturgefäß muss steril sein und so verwendet werden, dass eine mikrobielle Kontamination vermieden wird.
- Es müssen spezifische Nährmedien verwendet werden, die eine Proliferation der peripheren Blut-Lymphozyten ermöglichen. Diese sind üblicherweise mit fetalem bovinem Serum (FBS) (zwischen 10 % und 20 %), 200 mM L-Glutamin und Penicillin/Streptomycin (100 IU·ml⁻¹/100 µg·ml⁻¹) angereichert (siehe Literaturhinweis [8]).
- Das Mitogen (z. B. Phytohämagglutinin oder PHA) muss zum Medium hinzugefügt werden, um das Eintreten der Lymphozyten in die Mitose anzuregen.

- f) Ein Verfahren zur Sicherstellung der Auswertung der Metaphasen in der ersten Zellteilung muss angewendet werden (siehe 9.1).
- g) Colcemid oder Colchicin muss zu einem Zeitpunkt und in einer Konzentration, die vom Laboratorium festgelegt wird, zu der Zellkultur hinzugefügt werden, um die Zellen in der Mitose zu blockieren.
- h) Der Zeitpunkt der Aufarbeitung ist entscheidend, um die Anzahl von Zellen in der Metaphase der ersten Zellteilung zu maximieren, und muss entsprechend den Standardkulturbedingungen für das jeweilige Dienstleistungslaboratorium angepasst werden. Die empfohlene Kultivierungsdauer beträgt 48 h, kann aber unter bestimmten Umständen, wenn eine Mitoseverzögerung erwartet wird, verlängert werden.
- i) Die Zellen werden zentrifugiert, um die Zellen vom Medium abzutrennen. Anschließend müssen die Zellen 10 min bis 15 min mit einer hypotonischen Lösung, wie z. B. 0,075 M KCl, behandelt werden, damit die Zellen vor der Fixierung anschwellen.
- j) Nach dem Zentrifugieren muss der Überstand entfernt und die Zellen in frisch hergestellter Fixierlösung (d. h. Essigsäure:Methanol 1+3) fixiert und anschließend drei- oder viermal mit dieser Lösung gewaschen werden, bis die Zellsuspension klar ist.
- k) Wird eine Lagerung fixierter Zellen erforderlich, muss die Zellsuspension in einem Gefrierschrank bei -20 °C aufbewahrt werden.
- l) Präparate müssen so hergestellt werden, dass eine eindeutige Identifikation von chromosomalen Aberrationen möglich ist. Luftfeuchte- und Temperaturbedingungen können angepasst werden, um die Qualität der Spreitung zu erhöhen.
- m) Die Präparate sollten vor dem Färben mindestens 1 h trocknen. Die Präparate müssen mit Giemsa gefärbt werden. Wenn das FPG-Verfahren für die Identifizierung der Metaphasen der ersten Teilung angewendet wird, muss die FPG-Färbung mit Hoechst 33258 durchgeführt werden, gefolgt von einer UV-Bestrahlung.
- n) Um ein Ausbleichen zu vermeiden, müssen gefärbte Präparate im Dunkeln bei Raumtemperatur aufbewahrt werden. Für eine bessere Haltbarkeit sollten die Präparate mit einem entsprechenden Eindeckmittel eingedeckt werden.

8.2 Kalibrierquelle(n)

Das Dienstleistungslaboratorium muss einen Bericht vorlegen, der von einem qualifizierten Sachverständigen (d. h. Strahlenphysiker oder dem Leiter des Dienstleistungslaboratoriums) überprüft und bestätigt wurde und folgende Aspekte behandelt:

- a) Beschreibung [z. B. Philips-Röntgengerät mit einer Halbwertschichtdicke (HVL) von 2,1 mm Cu, 250 kVp, einem Heizstrom von 12,5 mA und einem Abstand zwischen Quelle und Oberfläche (en: source-to-surface distance, SSD) von 50 cm] für alle zur Erstellung von In-vitro-Kalibrierkurven verwendeten Strahlungsquellen;
- b) Charakterisierung jeder zur Erstellung von In-vitro-Kalibrierkurve verwendeten Kalibrier-Strahlungsquelle(n) und Rückverfolgbarkeit auf nationale/internationale Strahlungsstandards;
- c) Beschreibung des Dosimetrie-Protokolls, des Verfahrens welches belegt, dass die Dosimetrie entsprechend einer Norm durchgeführt wurde, des angewendeten Verfahrens welches zur Messung der Gleichmäßigkeit der Dosis im Versuchsfeld verwendet wurde und die schriftlich festgelegten Verfahren und Dokumentationen zur Bestimmungen der Dosis und Dosisleistung für einzelne Versuche;
- d) Bereitstellung eines zusammenfassenden Dosimetrieberichts für jede Dosis-Wirkungs-Kurve einer Kalibrierquelle.

8.3 Erstellen der Kalibrierkurve(n)

Sowohl für Niedrig-LET- als auch Hoch-LET-Photonenstrahlung sollten mindestens sieben Dosispunkte ausgewählt werden, die gleichmäßig auf die linearen und quadratischen Komponenten der Dosis-Wirkungs-Kurve verteilt sind. Die typischen Dosen für eine Kalibrierkurve liegen im Bereich von 0,1 Gy bis 4 Gy.

Lineare oder linear-quadratische Modelle sollten an die beobachteten relativen Häufigkeiten der dizentrischen Chromosomen (Y) angepasst werden [Gleichung (1)]. Bei den meisten Hoch-LET Strahlungsarten sollte ein lineares Modell am geeignetsten sein.

$$Y = C(SE_C) + \alpha D_T(\pm SE_\alpha) + \beta D_T^2(\pm SE_\beta) \quad (1)$$

Dabei ist

D_T Dosis;

α, β, C Koeffizienten des linear-quadratischen Modells;

SE Standardfehler der Koeffizienten.

Für die Kurvenanpassung werden zwei Verfahren vorgeschlagen, die iterativ neugewichtete Kleinste-Quadrate-Methode (IRLS: iteratively reweighted least squares) und die Maximum-Likelihood-Methode (siehe Anhang D). Bei nicht Poisson-verteilten Daten mit Überdispersion (d.h. bei Hoch-LET Strahlungsarten) muss die Überdispersion durch geeignete Gewichtung berücksichtigt werden. Wenn der erhaltene Chi-Quadrat Wert größer ist als die Freiheitsgrade, sollten die Standardabweichungen um

$$(\text{Chi-Quadrat}/\text{Freiheitsgrad})^{1/2}$$

erhöht werden.

Das Service-Labor muss einen Bericht vorlegen, der von einem qualifizierten Sachverständigen (d.h. Strahlenbiologe eines Dienstleistungslaboratoriums oder eine gleichwertige Fachkraft) überprüft und bestätigt wurde und folgende Aspekte behandelt:

- Beschreibung des experimentellen Expositionsaufbaus (Probenhalter, Temperaturregelung usw.) und der Verfahren zur Verifizierung der Reproduzierbarkeit des Expositionsaufbaus einzelner Versuche;
- ausführliche Beschreibung der In-vitro-Kalibrierdaten und deren Anpassung an eine Kalibrierung. Die Güte der Anpassung und Signifikanz der angepassten linearen und quadratischen Koeffizienten sollten angegeben werden.

Das Service Labor sollte dokumentierte und validierte Software zur Kurvenanpassung nutzen. Beispiele für derartige Software wurden durch die internationale Gemeinschaft für biologische Dosimetrie entwickelt und sind frei verfügbar. Wahrscheinlich können auch andere in der offen zugänglichen Literatur und im (World Wide) Web gefunden werden. Unabhängig davon, welche Software verwendet wird, sollte zur Validierung auch eine Prüfung anhand veröffentlichter Daten erfolgen.

8.4 Messung der kleinsten auflösbaren Dosis

Die kleinste auflösbare Dosis ist eine Funktion der gemessenen Kontroll-Hintergrundwerte der dizentrischen Chromosomen des jeweiligen Laboratoriums, der Koeffizienten der Kalibrierkurve und der analysierten Anzahl von Zellen und wird durch die niedrigste verwendete Dosis der entsprechenden Kalibrierkurve beschränkt. Ein akkreditiertes Laboratorium muss in der Lage sein, einen Bericht vorzulegen, in dem die kleinste auflösbare Dosis erwähnt wird; dieser Grenzwert sollte dem Arzt übermittelt werden, der die Schätzung der Dosis benötigt. Eine kleinste auflösbare Dosis von etwa 100 mGy wird empfohlen.

Wenn die vermutete Strahlendosis gering ist, kann die Berechnung des Chancenverhältnisses (Odds-Ratio) dem Bericht hinzugefügt werden (siehe Anhang E).

9 Bewertung instabiler Chromosomenaberrationen

9.1 Verfahren zur Bewertung von Metaphasen der ersten Teilung

Ein wichtiger Aspekt bei der Kultivierung von Blutproben zur Dosisabschätzung anhand dizentrischer Chromosomenaberrationen, ist der Zeitpunkt der Aufarbeitung zur Metaphasenanreicherung. Die maximale Häufigkeit von instabilen chromosomalen Aberrationen in Lymphozyten strahlenexponierter Einzelpersonen, tritt in Metaphasen der ersten Generation nach Exposition auf. Das Standardverfahren, das angewendet wird, um sicherzustellen, dass nur Metaphasenzellen der ersten Generation bewertet werden, basiert auf der FPG-Technik, diese erfordert die Zugabe von BrdU während der Kultivierung. Ein akzeptables Verfahren besteht auch darin anhand eines mit FPG gefärbten parallelen Präparats aus derselben Kultur festzustellen ob die Häufigkeit von Metaphasen aus der zweiten oder späteren Teilungsphasen gering ist (unter 5 %), in diesem Fall dürfen andere Parallelpäparate, nur mit Giemsa gefärbt, bewertet werden. Bei Kulturen, die mehr als 5 % an zweiten Teilungen enthalten, sollte nur FPG-gefärbtes Material ausgewertet werden. Alternative Techniken sind akzeptabel, so lange die Methodik dokumentiert und validiert ist. Für die Eindeckung zur Langzeitlagerung werden gefärbte Präparate empfohlen.

9.2 Bewertungskriterien

9.2.1 Kodierung von Proben und Objektträgern

Sämtliche Proben, Objektträger und Validierungsstandards innerhalb eines Laboratoriums bzw. zwischen Laboratorien müssen kodiert werden. Vollständige Aufzeichnungen der Kodierung müssen aufbewahrt werden.

9.2.2 Auswertetechniken

Der Leiter des Laboratoriums muss Auswerteverfahren festlegen und ausführen. Wenn die Auswertung zumindest teilweise durch computergestützte Systeme zur Auffindung von Metaphasen und/oder Bildanalyse erfolgt, sollte das angewendete System im Voraus Prüfungen zur Qualitätssicherung unterzogen worden sein und die Ergebnisse dokumentiert werden.

Ein systematisches Absuchen der Objektträger ist entscheidend, um eine vollständige Analyse sicherzustellen ohne eine Zelle mehr als einmal zu bewerten. Es wird empfohlen, dass für jede Probe mehr als ein Objektträger ausgewertet wird.

Während dizentrische Chromosomen ausnahmslos zur Dosisabschätzung verwendet werden, ist es in Dienstleistungslaboratorien gängige Praxis, dass sämtliche Chromosomenanomalien aufgezeichnet werden. Es sollte ein standardisiertes Auswertungsformular verwendet werden, wobei die Daten so aufgezeichnet werden, dass die in jeder Zelle ausgewerteten Aberrationen ersichtlich sind (Anhang F). Ist mehr als ein Auswerter an der Analyse beteiligt, muss jeder eine vergleichbare Anzahl von Metaphasen analysieren.

9.2.3 Fachkenntnisse des Labors bezüglich der Auswertung

Metaphasenanalysen sind durch geschultes und erfahrenes Personal durchzuführen, die vollständig mit der Bewertung von instabilen Chromosomenaberrationen vertraut sind, wie sie in der biologischen Dosimetrie verwendet werden. Eine Dokumentation zur Validierung ihrer Fachkenntnisse muss erfolgen.

Der Leiter des Laboratoriums ist für die Einhaltung der Bewertungskriterien und Aufrechterhaltung der Qualifikationen der einzelnen Auswerter verantwortlich. Sämtliche Auswerter müssen an Ringversuchen innerhalb des Laboratoriums und zwischen Laboratorien teilnehmen.

Ein Auswerter wird als kompetent bezeichnet, wenn die Anzahl seiner/ihrer ausgewerteten Chromosomenschäden innerhalb des 95 %-Poisson Konfidenzintervalls des Referenzwerts der Anzahl der Chromosomenschäden liegt, der aufgrund der laboreigenen Kalibrierkurve zu erwartet ist.

Nachstehend siehe zusätzliche Einzelheiten zur Bewertung der Fachkenntnisse mittels Leistungsüberprüfungen durch Ringversuche (12.2.2) und regelmäßige Überprüfungen von einzelnen Auswertern (12.2.3).

10 Kriterien für die Umwandlung der ausgewerteten Häufigkeit an Aberration in eine Abschätzung der absorbierten Dosis

10.1 Überblick

Die beobachtete Häufigkeit dizentrischer Chromosomen wird anhand einer geeigneten In-vitro-Kalibrierkurve, die mit einer vergleichbaren Strahlenqualität im selben Laboratorium erstellt wurde, in die absorbierte Dosis umgewandelt. Das ergibt eine Abschätzung der mittleren Ganzkörperdosis. Normalerweise sollten mindestens 500 Zellen von der fallbezogenen Probe ausgewertet werden, es sei denn, die Anzahl an Aberrationen ist hoch; in diesem Fall ist es nicht notwendig, die Auswertung über 100 dizentrische Chromosomen hinaus fortzusetzen. In dem besonderen Fall, einer sehr hohen Anzahl von dizentrischen Chromosomen aber nur weniger verfügbaren Metaphasen, kann eine Dosis nach der Auswertung von weniger als 100 dizentrischen Chromosomen im Bericht angegeben werden.

10.2 Vergleich mit Kontrollen

Das Dienstleistungslaboratorium muss im Fallbericht die laboreigene spontane Häufigkeit für dizentrische Chromosomen angeben (ein Beispiel ist in Anhang C angeführt). Wenn die beobachtete Häufigkeit der Aberrationen sich nicht signifikant vom Kontrollwert unterscheidet, sollte die Dosisabschätzung zwischen 0 und dem zugehörigen oberen Konfidenzintervall angegeben werden. Liegt die beobachtete Anzahl an Aberrationen signifikant höher als der Kontrollwert, wird eine Dosisabschätzung mit den zugehörigen Unsicherheiten errechnet und im Bericht angegeben.

10.3 Prüfung der Verteilung von Aberrationen je Zelle

Die Verteilung dizentrischer Chromosomen auf die Zellen ist nach homogener Exposition menschlicher Lymphozyten in der G_0 Phase mit Niedrig-LET-Strahlung durch eine Poisson-Verteilung gegeben. Im Fall einer nicht homogenen Bestrahlung oder nach der Exposition mit Hoch-LET-Strahlung weist die Verteilung der dizentrischen Chromosomen auf die Zellen Überdispersion auf (Varianz ist größer als der Mittelwert). Da Kurvenanpassungsverfahren auf der Poisson-Verteilungsannahme beruhen, muss die Verteilung dizentrischer Chromosomen auf die Zellen für alle verwendeten Dosen geprüft werden, um die Dosis-Wirkungs-Kurve zu erstellen. Das sollte durch den u -Test erfolgen, der eine normierte Einheit des Dispersionsindex $D = s^2/y$ (Varianz/Mittelwert) darstellt. Bei einer Poisson-Verteilung sollte D Eins sein, u -Werte, die höher sind als 1,96, weisen auf Überdispersion hin (Signifikanzniveau $\alpha = 0,025$).

$$u = (D - 1) \times \sqrt{\frac{N - 1}{\left[2 \times \left(1 - \frac{1}{\bar{X}}\right)\right]}} \quad (2)$$

Dabei ist

D Dispersionsindex;

N Anzahl analysierter Zellen;

X Anzahl der nachgewiesenen dizentrischen Chromosomen.

10.4 Bestimmung der abgeschätzten Ganzkörperdosis und des Konfidenzintervalls

10.4.1 Allgemeines

Das Dienstleistungslaboratorium muss im Befundbericht die abgeschätzte Ganzkörperdosis und das Konfidenzintervall angeben. Unsicherheiten werden üblicherweise mit einem 95 %-Konfidenzintervall angegeben, obwohl andere Prozentwerte möglich sind, wenn es in einem konkreten Fall als angemessen erachtet wird. Falls die untere Grenze des Konfidenzintervalls der Dosis kleiner Null ist, braucht nur die obere Grenze angegeben zu werden.

10.4.2 Konfidenzintervall für die Anzahl dizentrischer Chromosomen

Es gibt verschiedene Verfahren zur Ableitung von Vertrauensgrenzen für die Anzahl dizentrischer Chromosomen. Vertrauensgrenzen für Beobachtungen mit Poisson-Verteilung können Standardtabellen entnommen oder durch genaue oder näherungsweise Berechnung erhalten werden. Wenn eine gemessene Aberration in Bezug auf die Poisson-Verteilung Überdispersion aufweist, sollte die aus der Poisson-Verteilung abgeleitete Unsicherheit um die Quadratwurzel des Verhältnisses von Varianz zu Mittelwert erhöht werden (siehe 10.3).

Wird keine Tabelle genutzt, können Gleichungen (3) und (4) angewendet werden, sobald die Anzahl der Zellen 15 überschreitet:

$$a_1 = \frac{1}{4} \left(\sqrt{4N - 1} - u_{1-\alpha/2} \right)^2 \quad (3)$$

$$a_2 = \frac{1}{4} \left(\sqrt{4N + 1} + u_{1-\alpha/2} \right)^2 \text{ mit } u_{1-\alpha/2} = 1,96 \quad (4)$$

10.4.3 Konfidenzintervall für die Dosis

Das formalste Verfahren zur Schätzung der Unsicherheiten der Dosis ist, die Grenzen des Konfidenzintervalls der Häufigkeiten der Aberrationen mit den Unsicherheiten der Kurve zu kombinieren. Danach sollte die obere Grenze des Konfidenzintervalls in der niedrigeren Dosis-Wirkungs-Kurve und die untere Grenze des Konfidenzintervalls in der höheren Dosis-Wirkungs-Kurve angegeben werden.

Das Dienstleistungslaboratorium beschreibt in Ergebnisberichten das zur Bestimmung der erweiterten Unsicherheit angewendete Verfahren, z. B. des 95 %-Konfidenzintervalls, wie in ISO 5725-1 festgelegt.

Der Leiter des Laboratoriums muss die zur Bestimmung des Konfidenzintervalls angewendeten Verfahren festlegen.

10.5 Fälle nach akuter und nicht akuter Exposition

Ist eine übermäßige Strahlenbelastung akut erfolgt d. h. innerhalb 0,5 h, darf die Dosisabschätzung durch Bezugnahme auf eine akute in-vitro-erstellte Kalibrierkurve erfolgen. Ist bekannt, dass eine Überbelastung protrahiert über 24 h hinaus erfolgte darf die Dosisabschätzung durch Bezugnahme nur auf den Kontrollwert und den linearen Koeffizienten der akuten in-vitro-erstellten Kalibrierkurve erfolgen. Bei Expositionen im Bereich zwischen 0,5 h und 24 h kann die beobachtete Anzahl von Chromosomenschäden, falls vorhanden, anhand einer geeigneten nach nicht akuten Bestrahlung erstellten Kalibrierkurve, interpretiert werden. Alternativ kann die vollständige akute Kurve genutzt werden, jedoch mit einer Reduktion des quadratischen Terms der Dosiseffektbeziehung. Hierbei wird die G-Funktion verwendet.

Weiterführende Erläuterungen zur G-Funktion können dem technischen Bericht der IAEA entnommen werden.

Wird die Exposition unterbrochen, dürfen ihre einzelnen Teildosen als unabhängig betrachtet werden, d. h. ihre Wirkungen sind additiv, wenn der Zeitraum zwischen den Teildosen mehr als 5 h beträgt. Liegt er unter 5 h, sollte ein Faktor, der die Wechselwirkung berücksichtigt, einbezogen werden mit einer Zeitkonstante von 2 h.

Das Dienstleistungslaboratorium muss in den Befundberichten die Methoden, die zur Korrektur der Dosisabschätzung bei nicht akuter Exposition angewendete wurden angeben und ihre Anwendung begründen.

10.6 Fälle von Teilkörperexposition und Vorbelastung

Im Fall einer Teilkörperexposition mit Niedrig-LET-Strahlung kann es, in Abhängigkeit von den genauen Umständen, möglich sein, die ausgewertete Anzahl an Aberrationen in Bezug auf eine Bestrahlungsfraction und deren mittlere Dosis zu interpretieren. Diese werden unter Anwendung der Qdr¹⁾-Technik oder dem Verfahren der „kontaminierten Poisson-Verteilung“ (Poisson-Verteilung mit Nullenüberschuss) abgeleitet.

Bei dem Verfahren der „kontaminierten Poisson-Verteilung“ wird Gleichung (5) mittels Iteration nach der mittleren Häufigkeit der dizentrischen Chromosomen des bestrahlten Anteils (Y) gelöst.

$$\frac{Y}{(1 - e^{-Y})} = \frac{X}{(N - n_0)} \quad (5)$$

Dabei ist

Y mittlere Häufigkeit dizentrischer Chromosomen des bestrahlten Anteils, pro Zelle;

e^{-Y} unbeschädigte Zellen aus dem bestrahlten Anteil;

N Anzahl ausgewerteter Zellen;

X Anzahl der ermittelten dizentrischen Chromosomen;

n_0 Anzahl der Zellen ohne dizentrische Chromosomen.

Zur Berechnung des 95 %-Konfidenzintervalls für Y soll der in 10.4.2 angeführte Ansatz angewendet werden.

Der Anteil der ausgewerteten Zellen, die bestrahlt wurden, (f) kann unter Anwendung von Gleichung (6) berechnet werden:

$$Yf = \frac{X}{N} \quad (6)$$

Zur Schätzung des Anteils der ursprünglich exponierten Zellen (F) sollte Gleichung (7) angewendet werden:

1) Das Qdr-Verfahren wurde ursprünglich für dizentrische Chromosomen und Ringchromosomen entwickelt. An dieser Stelle werden jedoch nur dizentrische Chromosomen betrachtet.

$$F = \frac{\frac{f}{p}}{(1-f) + \frac{f}{p}} \quad (7)$$

Dabei ist

- f Anteil ausgewerteter Zellen, die bestrahlt wurden;
- p Anteil bestrahlter Zellen, der die Metaphase erreicht hat, unter Berücksichtigung von Mitoseverzögerung und Interphasetod. Der Wert p wird unter Anwendung von Gleichung (8) geschätzt.

$$p = \exp\left(\frac{-D_T}{D_{T0}}\right) \quad (8)$$

Dabei ist

- D_T geschätzte Dosis;
- D_{T0} Dosis, bei der eine 37%ige Zellabtötung erwartet wird.

Liegen keine spezifischen Daten vor, soll für die Photonenbestrahlung für D_{T0} ein Standardwert von 3,5 Gy angenommen werden.

Bei dem Qdr-Verfahren wird Gleichung (9) zur Schätzung der Dosis des bestrahlten Anteilsangewendet.

$$\frac{X}{Cu} = \frac{Y_1}{(1 - e^{(Y_1 - Y_2)})} \quad (9)$$

Dabei ist

- X Anzahl dizentrischer Chromosomen (dic);
- Cu Anzahl der Zellen mit instabilen Chromosomenaberrationen (dizentrische Chromosomen oder azentrische Fragmente);
- Y_1 und Y_2 die erwartete Häufigkeit von dizentrischen bzw. überzähligen azentrischen Chromosomen, pro Zelle.

Y_1 und Y_2 sind Funktionen der Dosis und aus den In-vitro-Dosis-Wirkungs-Kurven ableitbar. Die geschätzten Dosen werden durch einen Iterationsprozess erhalten. In diesem Fall werden die Standardabweichungen unter Berücksichtigung der Varianz dizentrischer Chromosomen in instabilen Zellen berechnet. Bei dem Qdr-Verfahren wird der Anteil ausgewerteter Zellen, die bestrahlt wurden, und der Anteil der ursprünglich exponierten Zellen durch Umwandlung der geschätzten Dosis in die relative Häufigkeit und anschließende Anwendung der Gleichungen (6) und (7) geschätzt.

Expositionen welche lange vor der Analyse auftreten werden durch das Verfahren der dizentrischen Chromosomen tendenziell unterschätzt. Wenn der Zeitpunkt und die Dauer einer Exposition in der Vergangenheit bekannt sind, sollte die gemessene Häufigkeit dizentrischer Chromosomen durch die Annahme einer Halbwertszeit von 3 Jahren angepasst werden. Im Fall von vorherigen Expositionen, die