

DIN EN ISO 19238



ICS 13.280; 17.240

Entwurf

Einsprüche bis 2023-01-11
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN ISO 19238:2020-05

**Strahlenschutz –
Durchführungskriterien für Dienstleistungslaboratorien zur Anwendung
der biologischen Dosimetrie mittels zytogenetischer Verfahren –
Dizentrischer Test (ISO/DIS 19238:2022);
Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 19238:2022**

Radiological protection –
Performance criteria for service laboratories performing biological dosimetry by
cytogenetics –
The dicentric assay (ISO/DIS 19238:2022);
German and English version prEN ISO 19238:2022

Radioprotection –
Critères de performance pour les laboratoires de service pratiquant la dosimétrie
biologique par cytogénétique –
Analyse des chromosomes dicentriques (ISO/DIS 19238:2022);
Version allemande et anglaise prEN ISO 19238:2022

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2022-11-11 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), Alexander-Wellendorff-Str. 2, 75172 Pforzheim.

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 96 Seiten

DIN-Normenausschuss Radiologie (NAR)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 19238:2022) wurde vom ISO/TC 85 „Nuclear energy, nuclear technologies, and radiological protection“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 430 „Kernenergie, Kerntechnik und Strahlenschutz“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR (Frankreich) gehalten wird.

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

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.

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

ISO/IEC 17025 siehe DIN EN ISO/IEC 17025

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

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 19238:2020-05 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Abschnitt 2 „Normative Verweisungen“ hinzugefügt;
- b) Abschnitt 4 „Abkürzungen“ hinzugefügt;
- c) Abschnitt 10 „Probenbearbeitung“ hinzugefügt;
- d) Literaturhinweise aktualisiert;
- e) Dokument redaktionell überarbeitet.

Nationaler Anhang NA
(informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO/IEC 17025, *Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien*

– *Entwurf* –

E DIN EN ISO 19238:2022-12

– Leerseite –

**Strahlenschutz – Durchführungskriterien für Dienstleistungslaboratorien zur
Anwendung der biologischen Dosimetrie mittels zytogenetischer Verfahren –
Dizentrischer Test (ISO/DIS 19238:2022)**

Radiological protection – Performance criteria for service laboratories performing biological dosimetry by cytogenetics – The dicentric assay (ISO/DIS 19238:2022)

Radioprotection – Critères de performance pour les laboratoires de service pratiquant la dosimétrie biologique par cytogénétique – Analyse des chromosomes dicentriques (ISO/DIS 19238:2022)

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Vorwort	5
Einleitung	6
1 Anwendungsbereich	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Abkürzungen	9
5 Dizentrische Chromosomenanalyse	10
6 Verantwortung des Auftraggebers	10
7 Verantwortung des Dienstleistungslaboratoriums	11
7.1 Aufbau und Aufrechterhaltung des QS-Programms	11
7.2 Verantwortlichkeit während der Dienstleistung	11
8 Vertraulichkeit von persönlichen Angaben	12
8.1 Überblick	12
8.2 Anwendungen des Grundsatzes der Vertraulichkeit	13
8.2.1 Übertragung von Verantwortlichkeiten innerhalb des Laboratoriums	13
8.2.2 Auftragserteilung für Analysen	13
8.2.3 Übermittlung vertraulicher Informationen	13
8.2.4 Anonymität von Proben	13
8.2.5 Berichterstattung der Ergebnisse	13
8.2.6 Aufbewahrung	13
8.2.7 Datensicherheitsplan	14
9 Sicherheitsanforderungen in Laboratorien	14
9.1 Überblick	14
9.2 Mikrobiologische Sicherheitsanforderungen	14
9.3 Chemikaliensicherheit	14
9.4 Optische Sicherheitsanforderungen	15
9.5 Sicherheitsplan	16
10 Durchführung der Probenahme	16
10.1 Kultivierung	16
10.2 Auswertung	17
10.2.1 Kodierung von Proben und Objektträgern	17
10.2.2 Auswertetechniken	17
10.2.3 Verfahren zur Bewertung von Metaphasen der ersten Teilung	17
10.2.4 Fachkenntnisse des Laboratoriums bezüglich der Auswertung	18
11 Kalibrierkurven	18
11.1 Kalibrierquelle(n)	18
11.2 Erstellen der Kalibrierkurve(n)	18
12 Kriterien für die Umwandlung der ausgewerteten Häufigkeit an Aberration in eine Abschätzung der absorbierten Dosis	20
12.1 Allgemeines	20
12.2 Prüfung der Verteilung von Aberrationen je Zelle	21
12.3 Vergleich mit dem Hintergrundlevel: Charakterisierung der erkennbaren Mindestdosis	21
12.4 Konfidenzintervall für die Anzahl dizentrischer Chromosomen	25
12.5 Berechnung der absorbierten Dosis bei Ganzkörperexposition	25
12.6 Berechnung der Unsicherheit der absorbierten Dosis	25
12.7 Fälle nach akuter und nicht akuter Exposition	26
12.8 Fälle von Teilkörperexposition und Vorbelastung	26
12.9 Andere Strahleneinwirkungsszenarien	28
13 Berichterstattung der Ergebnisse	28
13.1 Allgemeines	28

13.2	Inhalt des Berichts (hinsichtlich eines Standardvordrucks siehe Anhang C)	28
13.3	Interpretation der Ergebnisse	29
14	Qualitätssicherung und Qualitätskontrolle	30
14.1	Überblick	30
14.2	Spezielle Anforderungen	30
14.2.1	Allgemeines	30
14.2.2	Leistungsprüfungen durch Ringversuche	30
14.2.3	Regelmäßige Leistungsprüfung der Auswerterqualifikation	31
14.2.4	Leistungsprüfungen der Integrität des Proben transports	31
14.2.5	Leistungsprüfungen der Unversehrtheit der Proben durch das Dienstleistungslaboratorium	31
14.2.6	Leistungsprüfungen der Geräteausstattung	31
14.2.7	Leistungsprüfungen des Probenprotokolls	32
14.2.8	Leistungsprüfungen der Probenauswertung	32
14.2.9	Leistungsprüfungen der Dosisabschätzung und des Konfidenzintervalls	32
14.2.10	Leistungsprüfungen der Zusammenstellung des Ergebnisberichts	32
Anhang A (informativ)	Musteranweisungen für Auftraggeber	33
Anhang B (informativ)	Musterfragebogen	35
Anhang C (informativ)	Muster für einen Bericht	37
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	39
D.1	Anpassungsverfahren	39
D.2	Berechnung des Fehlers des Schätzwerts für die Dosis	41
Anhang E (informativ)	Verfahren zur Bestimmung des Chancenverhältnisses (Odds-Ratio) für Fälle einer vermuteten Exposition mit niedriger Dosis	42
Anhang F (informativ)	Erkennungsgrenze und Nachweisgrenze	44
F.2	R-Skript zur Berechnung der Erkennungsgrenze	45
Anhang G	Auswerteprotokoll zur Dokumentation von Aberrationen	47
Literaturhinweise		48

Bilder

Bild 1 — Darstellung der Erkennungs- und der Nachweisgrenze ($\mu_0 = const$)	23
Bild E.2 — Poissonsche Wahrscheinlichkeitsverteilung für die unterschiedlichen Mittelwerte $y = 0,5$ und $y = 4,1$	43

Tabellen

Tabelle 1 — Liste von Reagenzien und betreffenden Gefahrenhinweisen	15
Tabelle 2 — Legende Gefahrenhinweis	15
Tabelle 3 — Messabweichungsraten für die Herleitung von positiven und negativen Rückschlüssen	22
Tabelle E.1	42

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 19238:2022) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 85 „Nuclear energy, nuclear technologies, and radiological protection“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 430 „Kernenergie, Kerntechnik und Strahlenschutz“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird EN ISO 19238:2017 ersetzen.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 19238:2022 wurde von CEN als prEN ISO 19238:2022 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 Welt handelsorganisation (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.

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

Einleitung

Die zunehmende 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 Veränderungen, hauptsächlich durch dizentrische 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 dizentrische Chromosomenanalyse als ein Dosimeter eingesetzt wird und einen Beitrag zur Sammlung von Informationen liefert, die für die Beurteilung eines radiologischen Störfalls 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, sodass in-vitro ermittelte Dosis-Wirkungs-Beziehungen von bestrahlten Blutproben zur Erstellung von Kalibrierkurven verwendet werden können. Die Anzahl an dizentrischen Chromosomen hängt von der Strahlungsqualität und Dosisleistung sowie von den Umständen der Exposition (z. B. vergangene Zeit seit der Exposition, Homogenität) ab, daher sind Angaben über diese Variablen für jede Untersuchung wichtig. Falls bekannt, sind diese Expositionskennwerte wichtig für das Verbessern der Abschätzung der Aberration der Dosis 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 im Wesentlichen 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 oberen Nachweisgrenzen der Dosis reicht in den Bereich der für Menschen tödlichen Strahledosen hinein.

Der Hauptzweck dieses Dokuments ist die Bereitstellung einer Leitlinie für alle Laboratorien zur Durchführung der dizentrischen Chromosomenanalyse unter Anwendung dokumentierter und validierter Verfahren. Zweitens erleichtert sie den Vergleich von Ergebnissen, die in verschiedenen Laboratorien, insbesondere bei internationaler Zusammenarbeit oder laborübergreifenden Vergleichen (Ringversuchen), erhalten wurden. Letztendlich sollten Laboratorien, die neu mit der Durchführung der dizentrischen Chromosomenanalyse beauftragt sind, diesem Dokument entsprechen, um die Prüfung reproduzierbar und genau durchzuführen.

Dieses Dokument 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), wie in ISO 21243 beschrieben, angewendet werden.

Ein Teil der Informationen dieses Dokuments 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. Dieses Dokument erweitert und standardisiert jedoch vor allem die Qualitätssicherung und Qualitätskontrolle, Kriterien für die Akkreditierung und die Einschätzung der Durchführung. Dieses Dokument stimmt weitgehend mit ISO/IEC 17025 überein, unter besonderer Berücksichtigung der spezifischen Anforderungen der biologischen Dosimetrie. Die in diesem Dokument 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

Dieses Dokument stellt Kriterien für die Qualitätssicherung und Qualitätskontrolle, Validierung der Durchführung und Akkreditierung der biologischen Dosimetrie durch zytogenetische Dienstleistungslaboratorien, die die dizentrische Chromosomenanalyse mit manueller Auswertung verwenden, bereit.

Dieses Dokument behandelt Folgendes

- a) die Vertraulichkeit von persönlichen Angaben, in Bezug auf den Auftraggeber und das Dienstleistungslaboratorium,
- b) die Laboratorium-Sicherheitsanforderungen,
- c) die sinnvollen Kalibrierquellen (Kalibrierstrahler) und Kalibrierdosisbereiche zur Erstellung der Referenz-Dosis-Wirkungs-Kurven, die zur Dosisabschätzung anhand der Häufigkeit von instabilen Chromosomenaberrationen beitragen, und der Nachweisgrenzen,
- 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 mit Musteranweisungen für Auftraggeber, Musterfragebogen, Musterbericht, Anpassung der Niedrigdosis-Wirkungs-Kurve nach dem Maximum-Likelihood-Verfahren und Berechnung des Fehlers der Dosisabschätzung, Odds Ratio-Verfahren für Fälle einer vermuteten Exposition mit geringer Dosis, sowie eine Beispielberechnung und ein Musterdatenblatt für die Erfassung der Aberrationen.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

ISO/IEC 17025, *General requirements for the competence of testing and calibration laboratories*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieser Norm 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

azentrisches Fragment

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

3.2

Grundhäufigkeit/-pegel

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

3.3

zentrischer Ring

aberrantes ringförmiges Chromosom, das sich durch die Vereinigung zweier Bruchstellen separater Chromosomenarmen desselben Chromosoms entsteht

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

3.4

Centromer

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

3.5

Konfidenzintervall

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

3.6

Chromosom

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

3.7

Chromatid

einer der beiden Stränge eines duplizierten Chromosoms, die durch ein einzelnes Centromer verbunden sind und die während der Zellteilung zu einzelnen Chromosomen getrennt werden

3.8

Zytogenetik

ein Teilgebiet der Genetik, das sich mit dem Studium der Chromosomen beschäftigt

3.9

dizentrisches Chromosom

verändertes Chromosom mit zwei Zentromeren, das aus der Verbindung der Teile zweier gebrochener Chromosomen entsteht; tritt im Allgemeinen in Verbindung mit einem azentrischen Fragment auf

3.10

Interphase

Abschnitt des Zellzyklus zwischen der mitotischen Kernteilung

3.11

linearer Energietransfer, en: linear energy transfer, LET

Quotient aus der mittleren Energie, die die geladenen Teilchen aufgrund elektronischer Wechselwirkungen beim Zurücklegen einer Weglänge im Material verlieren, abzüglich der mittleren Summe der kinetischen Energien, die über die maximale Energie der lokal abgelagerten Elektronen hinausgehen, aller von den geladenen Teilchen freigesetzten Elektronen und der zurückgelegten Weglänge

3.12

Metaphase

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

3.13

mitotischer Index

prozentualer Anteil der Zellen einer sich teilenden Zellpopulation zu einem bestimmten Beobachtungszeitpunkt

3.14

Präzision

Konzept, das verwendet wird, um die Streuung von Messungen in Bezug auf ein Maß für den Ort oder die zentrale Tendenz zu beschreiben

3.15

Qualitätssicherung, en: quality assurance, QA

geplante und systematische Maßnahmen, die notwendig sind, um mit angemessener Zuverlässigkeit sagen zu können, dass ein Prozess, eine Messung oder eine Dienstleistung den gegebenen Anforderungen an die Qualität entspricht

3.16

Qualitätskontrolle, en: quality control, QC

geplante und systematische Maßnahmen zur Überprüfung der Konformität von Systemen und Komponenten mit vorgegebenen Anforderungen

3.17

Qdr

Häufigkeit von chromosomalen Veränderungen in Zellen mit einer chromosomalen Veränderung, in der Regel berechnet als die Anzahl der dizentrischen Chromosomen und/oder Ringchromosomen geteilt durch die Anzahl der Metaphasen mit einem dizentrischen Chromosom oder einem Ringchromosom

3.18

Dienstleistungslaboratorium

Laboratorium, das biologische Dosimetrieanalysen durchführt

4 Abkürzungen

BrdU	Bromdesoxyuridin
Co	Kobalt
covar	Kovarianz
Cs	Caesium
FBS	Fetales Kälberserum
FpG	Fluoreszenz-plus-Giemsa
Gy	Grau
H_0	Nullhypothese
H_1	Alternativhypothese
HVL	Halbwertschichtdicke
IAEA	Internationale Atomenergie-Organisation (en: International Atomic Energy Agency)
IEC	Internationale Elektrochemische Kommission, en: International Electrochemical Commission
ISO	Internationale Organisation für Normung, en: International Organization for Standardization
IU	Internationale Einheiten
KCl	Kaliumchlorid
LCL	Unteres Konfidenzintervall, en: Lower Confidence Limit
MEM	Minimales wesentliches Medium, en: Minimum Essential Medium

PHA	Phytohämagglutinin
R^2	Bestimmtheitsmaß
SE	Standardfehler, en: Standard Error
SSD	Quelle-Oberflächen-Abstand, en: Source-to-Surface Distance
TBT	Technische Handelsbarrieren, en: Technical Barriers to Trade
TC	Technisches Komitee
UCL	Oberes Konfidenzintervall, en: Upper Confidence Limit
var	Varianz
WTO	Welthandelsorganisation, en: World Trade Organization
y_d	Erkennungsgrenze
y_z	Nachweisgrenze

5 Dizentrische Chromosomenanalyse

Die Bestimmung 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 entweder nur dizentrische Chromosomen oder dizentrische Chromosomen plus zentrische Ringchromosomen verwendet. Das Dienstleistungslaboratorium muss für die Anwendung dieses Dokuments 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 10.1). Das erfordert, dass entweder 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 qualitativ hochwertigen 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 10).

Objektträger mit gefärbten Zellen werden unter dem Mikroskop gescannt, um geeignete Metaphasen in der ersten Teilung für die Auswertung der Chromosomenaberrationen zu identifizieren (siehe 10.2). 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 11).

6 Verantwortung des Auftraggebers

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

Anweisungsformular (in Anhang A abgebildet) zugesandt werden, in dem die Anforderungen erläutert werden. Die Anforderungen umfassen:

- a) Für die Blutentnahme sollten Blutentnahmeröhrchen verwendet werden, die Lithium oder Natriumheparin als Antikoagulans enthalten. Die Blutentnahmeröhrchen sollten vom Dienstleistungslaboratorium entweder zugesendet oder spezifiziert werden.
- 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) Es sollten Vorsichtsmaßnahmen getroffen werden, um die Unversehrtheit des Behälters sicherzustellen und das Austreten des Inhalts während des Transports zu verhindern. Blutproben dürfen während des Versands nicht tiefgefroren werden und sollten möglichst bei einer Temperatur zwischen 11 °C und 30 °C aufbewahrt werden, wobei auch eine niedrigere Temperatur über dem Gefrierpunkt zulässig ist [1]. Ein Temperaturlaufzeichnungsgerät sollte mitgeführt werden, um sicherzustellen, dass die Temperatur während des Versands überwacht wird. Verpackung und Kennzeichnung müssen nationalen und internationalen Vorschriften entsprechen. Bei einem Transport auf dem Luftweg sollte ein physikalisches Dosimeter verwendet werden, um zu kontrollieren, ob die Probe auf dem Transportweg bestrahlt wurde.
- d) Ein vom Dienstleistungslaboratorium bereitgestellter Fragebogen (siehe Anhang B) sollte vor Beginn der Blutkultivierungen ausgefüllt und zurückgesandt werden.
- e) Bei biologisch kontaminierten und/oder infektiösen Proben muss das Laboratorium benachrichtigt werden, damit zusätzliche Vorsichtsmaßnahmen bei der Handhabung der Probe getroffen werden können.

7 Verantwortung des Dienstleistungslaboratoriums

7.1 Aufbau und Aufrechterhaltung des QS-Programms

Das Dienstleistungslaboratorium muss ein QS-Programm (siehe Abschnitt 14) aufbauen und sicherstellen, dass alle Aspekte der Dienstleistung erfasst sind. Das QS-Programm des Laboratoriums sollte die folgenden Punkte behandeln:

- a) Es muss regelmäßige interne Überprüfungen der Gerätefunktion, der Eignung der Reagenzien und verschiedene Leistungsprüfungen (d. h. laboratoriumsinterne Vergleiche, Qualifikationen des Bearbeiters, Probenprotokoll, Auswertung, Abschätzungen der Dosis, Berichterstellung usw.) enthalten.
- b) Es muss regelmäßige externe Überprüfungen der Arbeitsabläufe des Laboratoriums enthalten. Die externen Audits müssen eine Überprüfung der Dokumentation des Laboratoriums zum Umgang mit der Ausstattung und zur Eignung der Reagenzien sowie verschiedene Leistungsprüfungen umfassen (d. h. laboratoriumsübergreifende Vergleiche, Qualifikation von Mitarbeitern, Unversehrtheit von Proben beim Transport, Zeit für die Zustellung usw.).

7.2 Verantwortlichkeit während der Dienstleistung

Das Dienstleistungslaboratorium muss notwendige Anleitungen, Methoden und fristgerechte Berichtswesen über die Dosisabschätzung mittels zytogenetischer Verfahren bei einer Dienstleistungsanfrage bereitstellen. 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 (siehe Anhang A);

- 2) einen Fragebogen, der die Zustimmung des Patienten und alle verfügbaren Informationen über den Patienten und die Strahleneinwirkungsszenarien enthalten muss (siehe Anhang B);
 - 3) Schritt für Schritt Vorgehen der Blutprobenverarbeitung, vom Eingang der Probe bis zur Angabe der Dosis im Bericht;
- b) das Dienstleistungslaboratorium ist nicht für den Transport der Proben verantwortlich, es sollte jedoch Empfehlungen zum Transport der Proben bereitstellen. Falls gefordert, muss ein Blutentnahmesystem von mindestens 10 ml Vollblut in Röhrchen, das Lithium oder Natriumheparin als Antikoagulans enthält, an den Auftraggeber gesendet werden mit dem entsprechend gekennzeichneten und adressierten Verpackungsmaterial für die Rücksendung der Probe an das Dienstleistungslaboratorium. Die Verpackung muss den nationalen und/oder internationalen Vorschriften für die Durchfuhr von potentiell infektiösen pathologischen Proben entsprechen (siehe 14.2.4).
- c) Nach dem Eingang der Blutprobe müssen die folgenden Schritte durchgeführt werden:
- 1) Dokumentieren des Empfangs der Blutprobe (Datum, Zeitpunkt, Empfänger);
 - 2) Überprüfen der Qualität der Probe (Blutvolumen, Unversehrtheit der Röhrchen);
 - 3) Kennzeichnung der Blutprobe mit einem eindeutigen Code;
 - 4) Lagerung der Proben bei Raumtemperatur und Dokumentation des Lagerungsortes bis zum Anlegen der Kulturen;
 - 5) Anlegen von parallelen Kulturen so schnell wie möglich und Dokumentation von Datum, Zeitpunkt und Bearbeiter;
 - 6) Dokumentieren sämtlicher für die Kultivierung verwendeten Reagenzien mit den entsprechenden Chargennummern und Verfallsdaten;
 - 7) Dokumentieren der Zugabe von Reagenzien und des Endes der Kultivierung (Datum, Zeitpunkt, Bearbeiter);
 - 8) Dokumentieren der Kurz- und Langzeitlagerung der Probe bis zum Herstellen der Objektträger;
 - 9) Dokumentieren der Objektträgercodes, der Anzahl der Objektträger und des Orts der Aufbewahrung;
 - 10) Dokumentation der Ergebnisse aus der Auswertung;
 - 11) Aufbewahrung der Objektträger und fallbezogenen Dokumente an einem geeigneten Ort für eine mögliche rechtsmedizinische Neubewertung des Falls;
- d) Interpretation der Ergebnisse und Erstellung der Berichte durch das Dienstleistungslaboratorium (siehe Anhang C);
- e) das Dienstleistungslaboratorium muss den Dialog mit dem Auftraggeber aufrechterhalten und die Ergebnisse dem Auftraggeber übermitteln.

8 Vertraulichkeit von persönlichen Angaben

8.1 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 aller Informationen des Patienten, einschließlich der Identität, der

medizinischen Daten usw. 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.

8.2 Anwendungen des Grundsatzes der Vertraulichkeit

8.2.1 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 entsprechende Schulung absolviert und 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.

8.2.2 Auftragserteilung für Analysen

In Abhängigkeit von nationalen Vorschriften sollte der Auftrag für eine Analyse üblicherweise durch einen Arzt, der den Patienten vertritt, oder aufgrund von Rechtsansprüchen von einer anderen Behörde 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.

8.2.3 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.

8.2.4 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 7.2. festgelegt, zugewiesen. Die Decodierung, Auswertung der Ergebnisse und Erstellung des Berichts sind auch durch eine befugte Person durchzuführen.

8.2.5 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 verantwortliche Personen weitergegeben werden.

8.2.6 Aufbewahrung

Der Leiter des Laboratoriums muss festlegen, wie fixierte Zellen, Objektträger, Daten und Ergebnisse aufbewahrt werden. Die Aufbewahrungsfristen werden vom Leiter des Laboratoriums in Übereinstimmung mit den nationalen Vorschriften/Richtlinien für eine mögliche rechtsmedizinische Neubewertung des Falles festgelegt.

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. Die endgültige Entsorgung der Unterlagen muss durch sichere Mittel, wie z. B. Schreddern, erfolgen.

8.2.7 Datensicherheitsplan

Zum Schutz von Daten, die persönliche und identifizierbare Informationen enthalten, sollte ein Datensicherheitsplan mit schriftlichen Verfahren erstellt werden. Dieser sollte Bestimmungen für die Aufbewahrung von schriftlichen und elektronischen Daten, Ergebnissen und Berichten an einem sicheren Ort enthalten, der nur für autorisierte Personen zugänglich ist. Darüber hinaus sollte ein Plan für die sichere Datenvernichtung vorhanden sein.

9 Sicherheitsanforderungen in Laboratorien

9.1 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.

9.2 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, die mindestens der Klasse 2 entspricht, 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 Krankheitserreger 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 keine Krankheitserreger enthalten.

9.3 Chemikaliensicherheit

Bei den in diesem Dokument behandelten Verfahren werden regelmäßig bestimmte Chemikalien und Pharmazeutika eingesetzt. 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 in Tabelle 1, ihre H-Sätze in Tabelle 2 aufgeführt. Dabei muss beachtet werden, dass handelsübliche Produkte aufgrund ihrer physischen Form/Menge/Zusammensetzung unterschiedlich sein können. Für die in einem Laboratorium verwendeten Reagenzien müssen stets die vom Hersteller mitgelieferten Gefahren- und Vorkehrungshinweise auf den Sicherheitsdatenblättern beachtet werden.

Tabelle 1 — Liste von Reagenzien und betreffenden Gefahrenhinweisen

REAGENZIEN	GEFAHRENHINWEIS
Essigsäure	H226, H314
Benzylpenicillin	H317, H334
Bisbenzimid (Hoechst-Färbemittel)	H302, H315, H319
Bromdesoxyuridin (BrdU)	H351
Colcemid	H300
Giemsa Färbemittel	H225, H301, H311, H331, H370
Heparin	H315, H319, H334
Methanol	H225, H301, H311, H331, H370
Phytohämagglutinin (PHA)	H302, H317, H332
Streptomycinsulfat	H302, H361

Tabelle 2 — Legende Gefahrenhinweis

Gefahrenhinweis	Legende
H225	Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar
H226	Flüssigkeit und Dampf entzündbar
H300	Lebensgefahr bei Verschlucken
H301	Giftig bei Verschlucken
H302	Gesundheitsschädlich bei Verschlucken
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
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

9.4 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.

9.5 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.

10 Durchführung der Probenahme

10.1 Kultivierung

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

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

- a) zur Herstellung der Kalibrierkurven muss das Blut unmittelbar nach der Bestrahlung und vor der Kultivierung für mindestens 2 h bei $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ inkubiert werden;
- b) die Zellen müssen in einem kalibrierten Brutschrank bei $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ entweder als Vollblut, als eine angereicherte Lymphozytensuspension („Buffy-Coat“) oder als isolierte Lymphozyten kultiviert werden;
- c) das Kulturgefäß muss steril sein und so verwendet werden, dass eine mikrobielle Kontamination vermieden wird;
- d) es müssen spezifische Nährmedien verwendet werden, die eine Proliferation der peripheren Blut-Lymphozyten ermöglichen. Die am häufigsten verwendeten Wachstumsmedien sind zum Beispiel RPMI-1640, Ham's F10, MEM oder mit fötalem Kälberserum (FKS) angereichertes McCoy (zwischen 10 % und 20 %), L-Glutamin 200 mM sowie Penicillin/Streptomycin ($100\text{ IU}\cdot\text{ml}^{-1}/100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$);
- e) ein Mitogen (z. B. Phytohämagglutinin oder PHA) muss zum Medium hinzugefügt werden, um das Eintreten der Lymphozyten in die Mitose anzuregen;
- f) ein Verfahren, wie die Verwendung von BrdU, zur Sicherstellung der Identifizierung der Metaphasen in der ersten Zellteilung muss angewendet werden (siehe 9.2.3);
- g) Colcemid 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) nach der Kultivierung werden die Zellen zentrifugiert, um sie zu trennen. 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 können;
- 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 Langzeitlagerung fixierter Zellen erforderlich, muss die Zellsuspension in einem Gefrierschrank bei -20°C , vorzugsweise in Glasröhrchen, aufbewahrt werden;

- l) Präparate müssen so hergestellt werden, dass eine eindeutige Identifikation von chromosomalen Aberrationen möglich ist. Luftfeuchte- und Temperaturbedingungen können von jedem Laboratorium optimiert werden, um die Qualität der Spreizung zu verbessern;
- m) wenn die Langzeitlagerung von ungefärbten Objektträgern der Lagerung von fixierten Zellen vorgezogen wird, sollten diese in einem Gefrierschrank bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt werden;
- n) Objektträger müssen nach den im jeweiligen Laboratorium festgelegten Protokollen angefärbt werden;
- o) für die Langzeitlagerung von gefärbten Zellen sollten die Präparate mit einem entsprechenden Eindeckmittel eingedeckt werden.

10.2 Auswertung

10.2.1 Kodierung von Proben und Objektträgern

Alle Proben und Objektträger müssen mit einem eindeutigen, vom Leiter des Laboratoriums festgelegten Code versehen sein. Vollständige Aufzeichnungen der Kodierung müssen aufbewahrt werden.

10.2.2 Auswertetechniken

Der Leiter des Laboratoriums muss Auswerteverfahren festlegen und ausführen. Neben der manuellen Auswertung von dizentrischen Chromosomen gibt es verschiedene Möglichkeiten zur automatischen oder halbautomatischen Erkennung von dizentrischen Chromosomen [2,3]. Die Kriterien für die automatische oder halbautomatische Auswertung müssen im Voraus festgelegt und validiert werden. 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 durch manuelle Auswertung aufgezeichnet werden. Es muss ein standardisiertes Auswertungsformular verwendet werden, wobei die Daten so aufgezeichnet werden, dass die in jeder Zelle ausgewerteten Aberrationen ersichtlich sind (siehe Anhang G). Ist mehr als ein Auswerter an der Analyse für Dosimetriezwecke beteiligt, muss jeder eine vergleichbare Anzahl von Metaphasen analysieren.

10.2.3 Verfahren zur Bewertung von Metaphasen der ersten Teilung

Ein wichtiger Aspekt bei der Kultivierung von Blutproben zur Dosisabschätzung anhand dizentrischer Chromosomenanalyse, ist der Zeitpunkt der Aufarbeitung zur Metaphasenanreicherung. Die maximale Häufigkeit von instabilen chromosomalen Aberrationen in Lymphozyten strahlenexponierter Einzelpersonen tritt in Metaphasen der ersten Teilung nach der Exposition auf. Es können verschiedene Verfahren verwendet werden, um sicherzustellen, dass nur Metaphasenzellen der ersten Teilung bewertet werden. Die FpG-Technik (Fluoreszenz-plus-Giemsa) erfordert die Zugabe von BrdU während der Kultivierung und von Colcemid 2 Stunden oder 3 Stunden vor dem Beenden der Kulturen. 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 Parallelpräparate, nur mit Giemsa gefärbt, bewertet werden. Bei Kulturen, die mehr als 5 % an zweiten Teilungen enthalten, darf nur FpG-gefärbtes Material ausgewertet werden. Die frühzeitige Zugabe von Colcemid, d. h. 24 Stunden nach dem Anlegen der Kultur, verhindert das Wachstum der Zellen über die erste Metaphase hinaus, wodurch dieses Verfahren einfacher und schneller als die FpG-Färbung ist. Allerdings muss die Konzentration optimiert werden, um eine extreme Kondensation der Metaphasenchromosomen zu verhindern. Alternative Techniken sind akzeptabel, so lange die Methodik dokumentiert und validiert ist. Für die Langzeitlagerung werden gefärbte und eingedeckte Präparate empfohlen.

10.2.4 Fachkenntnisse des Laboratoriums bezüglich der Auswertung

Metaphasenanalysen müssen durch geschulte und erfahrene Auswerter durchgeführt werden, die vollständig mit der Bewertung von instabilen Chromosomenaberrationen und der Anwendung der in der biologischen Dosimetrie verwendeten Software-Tools vertraut sind. 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. Alle Auswerter müssen regelmäßig an laborinternen und laborübergreifenden Vergleichen teilnehmen.

Ein Auswerter gilt als qualifiziert, wenn das 95 %-Konfidenzintervall der Dosen, die auf der Grundlage der Anzahl der dizentrischen Proben und der Kalibrierkurve des Laboratoriums geschätzt wurden, die Referenzdosen einschließt.

Nachstehend siehe zusätzliche Einzelheiten zur Beurteilung der Fachkenntnisse bezüglich der Bewertung mittels Leistungsprüfungen durch Ringversuche (14.2.2) und regelmäßige Überprüfungen von einzelnen Auswertern (14.2.3).

11 Kalibrierkurven

11.1 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 der Strahlungsqualität [z. B. 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] und der Bestrahlungseinrichtung 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 Dosimetrieprotokolls, einschließlich der Einzeldaten zur gemessenen Strahlungsmenge, Verfahren zur Zertifizierung, dass die Dosimetriemethode nach einer Norm kalibriert wurde, Verfahren zur Messung der Strahlungsgleichförmigkeit im experimentellen Versuch sowie schriftliches Verfahren und Dokumentation zur Verifizierung der Dosis- und Dosisleistungsbestimmungen bei einzelnen Experimenten;
- d) Bereitstellung eines zusammenfassenden Dosimetrieberichts für jede Dosis-Wirkungs-Kurve einer Kalibrierquelle.

Weitere Einzelheiten zu Bestrahlungsparametern und -bedingungen können dem IAEA-Handbuch [1] entnommen werden.

11.2 Erstellen der Kalibrierkurve(n)

Die Auswahl der Strahlungsquellen für die Kalibrierkurven sollte die wahrscheinlichsten zu analysierenden Fälle widerspiegeln. Es ist wichtig sicherzustellen, dass bei der Interpretation der Ergebnisse die Strahlungseigenschaften der Kalibrierkurve berücksichtigt werden, da die Form der Kurve je nach Strahlungsart, -qualität und Dosisleistung variiert. Üblicherweise sollten akute Dosisleistungen von über 0,3 Gy/min gewählt werden. Die Kalibrierkurve kann für dizentrische Chromosomen oder dizentrische Chromosomen und zentrische Ringchromosomen angepasst werden. Das Laboratorium entscheidet, welche Aberration(en) bewertet werden soll(en), und es muss eine geeignete Kalibrierkurve unter genau denselben Versuchsbedingungen für die Kalibrierung und Dosimetrie erstellt werden.

Es sollten mindestens 7 Dosen ausgewählt werden. Dabei sollten mindestens 5 Dosen unter 1 Gy (einschließlich 0 Gy) liegen. Die üblichen Dosen für eine Kalibrierkurve reichen von 0,1 Gy bis 5 Gy für Niedrig-LET-Strahlung (z. B. Co-60 oder Cs-137 Gammastrahlen) [1]. Die Auswahl dieser beiden Dosispunkte ist wichtig, da sie die niedrigste und höchste Dosis definieren, für die das Laboratorium einen Bericht erstellen kann.

Um den Hintergrundwert der dizentriscen Chromosomen (0 Gy-Dosis) zu bestimmen, sollten mindestens 5 000 Zellen bewertet werden. Bei Dosen unter 1 Gy sollten 3 000 – 5 000 Zellen je Dosispunkt bewertet werden. Bei einer Dosis von über 1 Gy sollte das Laboratorium darauf abzielen, bei jeder Dosis etwa 100 dizentrische Chromosomen (oder dizentrische Chromosomen plus zentrische Ringchromosomen) zu entdecken. In allen Fällen sollte man sich darauf konzentrieren, den Fehler in der angepassten Kurve zu minimieren. Höhere Zahlen von bewerteten Zellen verringern die Unsicherheit der Einschätzungen der absorbierten Dosis. Die Kalibrierkurven sollten von Proben erstellt werden, die von mindestens zwei erwachsenen, gesunden Spendern stammen, wobei die Daten von diesen verschiedenen Spendern zusammengefasst werden können. Wenn spenderspezifische Auswirkungen beobachtet wurden, könnten weitere Untersuchungen zu den Gründen für die Unterschiede erforderlich sein, z. B. die Analyse einiger Dosispunkte von zusätzlichen Spendern oder die Wiederholung der Analyse von ausgewählten Dosen der ursprünglichen Spender.

Bei hoher LET-Strahlung (z. B. durch Neutronen) liegt die obere Dosisgrenze wegen der hohen Zellschäden bei höheren Dosen üblicherweise bei 2 Gy.

Die folgenden Definitionen werden für weitere Berechnungen verwendet:

- y : beobachtete dizentrische Chromosomen: Die absolute Anzahl der dizentriscen Chromosomen, die in n -bewerteten Zellen beobachtet wurden;
- μ : beobachtete Ausbeute an dizentriscen Chromosomen: Die beobachtete Anzahl der dizentriscen Chromosomen je Zelle.

Die beobachtete Ausbeute an dizentriscen Chromosomen, μ , sollte an die linearen oder linear-quadratischen Modelle angepasst werden (Gleichung (1)).

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

Dabei ist $\mu = \frac{y}{n}$

Nach den Angaben im IAEA-Handbuch können das untere und das obere 95-%-Konfidenzintervall anhand folgender Gleichung berechnet werden:

$$\mu = C + \alpha D + \beta D^2 \pm \sqrt{R^2 (\text{var}(C) + \text{var}(\alpha) D^2 + \text{var}(\beta) D^4 + 2\text{covar}(C, \alpha) D + 2\text{covar}(C, \beta) D^2 + 2\text{covar}(\alpha, \beta) D^3)} \quad (2)$$

Dabei ist/sind

D die absorbierte Dosis;

α , β und C die Koeffizienten der Anpassung an das linear-quadratische Modell;

SE der Standardfehler der Koeffizienten;

R^2 der Koeffizient der Bestimmung und das 95-%-Konfidenzintervall einer Chi-Quadrat-Verteilung, χ^2 (Freiheitsgrad, 95 %), mit 2 oder 3 Freiheitsgraden. Bei einer linear-quadratischen Kurve (Freiheitsgrade = 3) ist R^2 gleich 7,81 und bei einer linearen Kurve (Freiheitsgrade = 2) 5,99;

var	die Varianz des Koeffizienten in Klammern;
covar	die Kovarianz der beiden Koeffizienten in Klammern, die in den meisten genormten Softwarepaketen zur Verfügung steht.

Die statistische Signifikanz der Koeffizienten sollte mithilfe einer F-Prüfung getestet werden. Bei einem linear-quadratischen Modell ist entscheidend, dass beide Koeffizienten, α und β , statistisch signifikant sind. Wenn der LET steigt, tendiert der β -Koeffizient gegen Null. Wenn der β -Koeffizient statistisch nicht signifikant ist, sollten die Daten an ein lineares Modell angepasst werden, wobei βD^2 aus Gleichung (1) ausgeschlossen wird.

Für die Kurvenanpassung werden zwei Verfahren vorgeschlagen, die iterativ neugewichtete Kleinste-Quadrate-Methode (IRLS: iteratively reweighted least squares) und die Methode der größten Wahrscheinlichkeit (en: Maximum-Likelihood-Methode) (siehe Anhang D) [4,5]. Als eine Mindestanforderung, wenn der erhaltene Chi-Quadrat Wert größer ist als die Freiheitsgrade, sollten die Standardabweichungen um $(\text{Chi-Quadrat}/\text{Freiheitsgrad})^{1/2}$ erhöht werden. Andere konsistente Methoden können ebenfalls angewendet werden, sofern sie validiert sind.

Das Laboratorium sollte eine dokumentierte und validierte Kurvenanpassungssoftware verwenden, die Gleichung (1) und Gleichung (2) entspricht. Mehrere dieser Softwarepakete wurden von der internationalen biologischen Dosimetrie-Gemeinschaft entwickelt und sind kostenlos erhältlich. Andere, einschließlich kommerziell angebotenen Software-Tools, können über öffentlich zugängliche Literatur und im Internet gefunden werden. Unabhängig davon, welche Software verwendet wird, die Validierung sollte stets eine Prüfung gegenüber den veröffentlichten Daten umfassen.

Das Laboratorium muss einen von einer benannten, kompetenten Personen überarbeiteten und freigegebenen Bericht vorlegen, der Folgendes umfasst:

- a) Beschreibung der experimentellen zur Bestrahlung verwendeten Einrichtung (Probenhalter, Temperatursteuerung usw.) und Verfahren zur Verifizierung der Reproduzierbarkeit der experimentellen zur Bestrahlung verwendeten Einrichtung für individuelle Experimente;
- b) detaillierte Angaben zu den In-vitro-Kalibrierungsdaten und zu ihrer Anpassung an eine Kalibrierkurve. Die Anpassungsgüte, die Signifikanz der angepassten linearen und quadratischen Koeffizienten sowie die Unsicherheitseinschätzungen sollten ebenfalls berichtet werden.

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

12.1 Allgemeines

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 (siehe Abschnitt 11.1). 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.

Sofern ausreichende Daten verfügbar sind, muss das Dienstleistungslaboratorium in den Berichten die eingeschätzte absorbierte Dosis des ganzen Körpers und das Konfidenzintervall angeben. Unsicherheiten sollten anhand der kombinierten Standardmessunsicherheit und der erweiterten Messunsicherheit als 95-%-Konfidenzintervall angegeben werden. Dabei muss beachtet werden, dass Unsicherheiten nach ISO/IEC Guide 98-3 durch die gesamte Analyse propagiert werden sollten. Andere charakteristische Grenzen (Erkennungs- und Nachweisgrenze) oder Konfidenzintervalle sollte ebenfalls berichtet werden, sofern dies im betreffenden Fall nach der folgenden Darstellung angemessen ist.

12.2 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 (die beobachtete 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. Dazu sollte eine standardisierte statistische Prüfung verwendet werden, z. B. die u Prüfung, die eine normalisierte Einheit des Dispersionsindex $\delta = s^2/\mu$ (Varianz/Mittelwert) ist [5,6]. Für eine Poisson-Verteilung ist δ gleich eins. Nach Gleichung (3) berechnete $|u|$ -Werte, die größer als 1,96 sind, deuten auf eine Über- (oder Unter-) Dispersion (zweiseitiges Signifikanzniveau, $\alpha = 0,05$) und damit auf eine Abweichung von einer Poisson-Verteilung hin.

$$\mu = (\delta - 1) \sqrt{\frac{n - 1}{2(1 - 1/\mu)}} \quad (3)$$

Dabei ist

δ der Dispersionsindex;

n die Anzahl analysierter Zellen;

μ die mittlere Anzahl der nachgewiesenen dizentrischen Chromosomen.

12.3 Vergleich mit dem Hintergrundlevel: Charakterisierung der erkennbaren Mindestdosis

In ISO 11929-1 [7], werden zwei charakteristische Grenzwerte festgelegt:

- die Erkennungsgrenze (y_d) oder die mindestens auflösbare Anzahl von dizentrischen Chromosomen, also der Grenzwert, oberhalb dessen angenommen werden kann, dass die physischen Effekte quantifizierbar sind. Mit anderen Worten kann die Erkennungsgrenze als die Mindestanzahl von dizentrischen Chromosomen verstanden werden, die sich signifikant, also um ein bestimmtes Signifikanzniveau α (z. B. $\alpha = 0,05$) von der erwarteten Grundhäufigkeit der dizentrischen Chromosomen;
- die Nachweisgrenze (y_z) ist der kleinste wahre Wert der Messgröße (Anzahl der dizentrischen Chromosomen), der erkannt werden kann. Sie liefert Informationen zum praktischen Nutzungsbereich der Analyse und wird damit für die Bewertung verwendet, ob das Messverfahren unter den angegebenen Umständen geeignet ist.

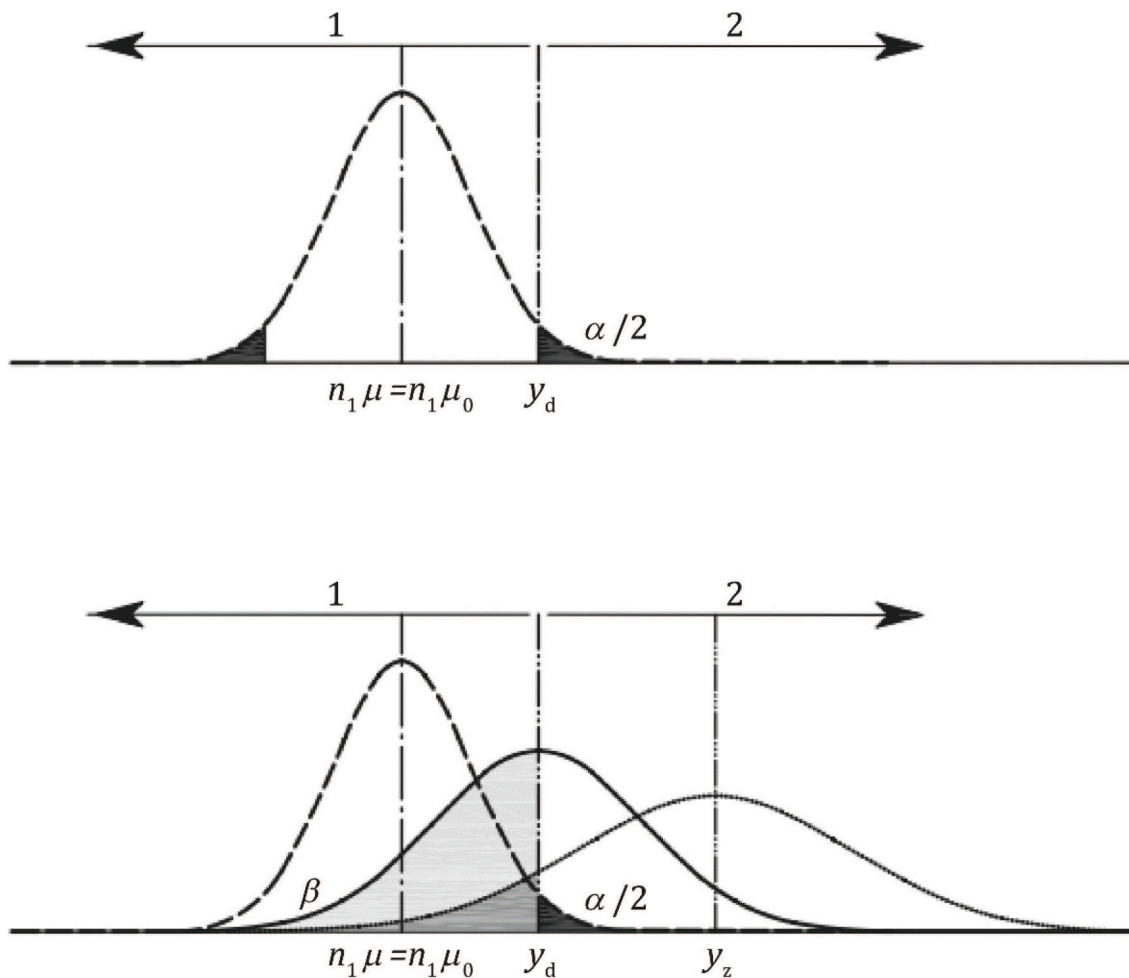
Die Erkennungs- und die Nachweisgrenze sollten berechnet werden, bevor die Messung durchgeführt wird.

Tabelle 3 — Messabweichungsraten für die Herleitung von positiven und negativen Rückschlüssen

		Hergeleiteter Rückschluss	
		Prüfperson exponiert H_0 zurückgewiesen	Prüfperson nicht exponiert H_0 angenommen
Wahrer Zustand	Prüfperson exponiert H_0 falsch	Wahr-positiv	Typ-2-Fehler (β) Falsch-negativ
	Prüfperson nicht exponiert H_0 wahr	Typ-1-Fehler ($\frac{\alpha}{2}$) Falsch-positiv	Wahr-negativ

Wenn eine Prüfperson eine Anzahl von dizentrischen Chromosomen zeigt, die über der Erkennungsgrenze (y_d) liegt, könnte man zu dem Schluss kommen, dass der Patient exponiert war und eine Dosiseinschätzung durchgeführt werden sollte. In anderen Worten: Die Nullhypothese (H_0), das heißt die Annahme, dass die Prüfperson nicht exponiert war oder dass die beobachtete Anzahl der dizentrischen Chromosomen gleich der Grundhäufigkeit von dizentrischen Chromosomen ist, mit einer Typ-1-Fehlerbewertung $\frac{\alpha}{2}$ zurückgewiesen werden. Dann wird geschlossen, dass eine physische Wirkung vorhanden ist. Ein wichtiger zu berücksichtigender Parameter ist jedoch die Tatsache, dass der Dosiswert Null nicht innerhalb des Konfidenzintervalls von 95 % der verwendeten Dosis-Wirkungs-Kurve liegen darf. Sollte dies der Fall sein, könnte man nicht zu dem Schluss kommen, dass die Person exponiert war. Liegt die Anzahl der dizentrischen Chromosomen y dagegen unter der Erkennungsgrenze y_d , wird entschieden, dass das Ergebnis nicht der physischen Wirkung zugeordnet werden kann. Damit kann nicht geschlossen werden, dass die Prüfperson exponiert war. In Abhängigkeit vom unbekannten wahren Zustand (siehe Tabelle 3) könnte die Wahrscheinlichkeit für ein falsch-negatives Ergebnis dennoch relativ hoch sein. Es kann also nicht geschlossen werden, dass die Person nicht exponiert war (siehe Bild 1).

In Fällen, in denen die beobachtete Anzahl der dizentrischen Chromosomen unter der Erkennungsgrenze liegt, muss die Nachweisgrenze gemeldet werden. Die Nachweisgrenze liefert wertvolle Daten zur wahren Dosis (oder Anzahl der dizentrischen Chromosomen), oberhalb der weniger als 100 β % falsch-negative Ergebnisse erwartet werden. Die Nachweisgrenze kann wie folgt ausgewertet werden: Unter der Annahme, dass eine Prüfperson exponiert war (wahrer Zustand, siehe Tabelle 3) und bei einer wahren Dosis oder Anzahl der dizentrischen Chromosomen der Prüfperson über der Nachweisgrenze wäre die Wahrscheinlichkeit, dass eine Anzahl dizentrischer Chromosomen unterhalb der Erkennungsgrenze erkannt und damit ein falsch-negativer Rückschluss hergeleitet werden kann, kleiner als β .



Legende

- | | | | |
|------|------------------------------|---|--|
| 1 | H_0 angenommen | — | Probenverteilung unter H_1 (Mittelwert bei y_d) |
| 2 | H_0 zurückgewiesen | — | Probenverteilung unter H_1 (Mittelwert bei y_z) |
| ---- | Probenverteilung unter H_0 | — | Nachweisgrenze y_z |
| — | Erkennungsgrenze y_d | | |

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

Obere Grafik: Wenn die Nullhypothese H_0 (Prüfperson nicht exponiert) wahr ist (d. h. die Anzahl der dizentrischen Chromosomen μ der Prüfperson ist gleich der Grundhäufigkeit der dizentrischen Chromosomen μ_0), dann ist die Wahrscheinlichkeit für eine fälschliche Zurückweisung von H_0 oder für die Beobachtung der Anzahl von dizentrischen Chromosomen, die über der Erkennungsgrenze y_d liegt, kleiner als $\frac{\alpha}{2}$.

Untere Grafik: Wenn die Alternativhypothese H_1 (Prüfperson exponiert) wahr und die wahre Dosis bzw. die wahre Anzahl von dizentrischen Chromosomen gleich der Erkennungsgrenze y_d ist, dann liegt die Wahrscheinlichkeit für eine fälschliche Annahme von H_0 bei etwa 0,5 (hellgraue Fläche unter der Kurve). Wenn die wahre Dosis bzw. die wahre Anzahl von dizentrischen Chromosomen über der Nachweisgrenze liegt, ist die Wahrscheinlichkeit für eine fälschliche Annahme von H_0 kleiner als eine definierte Typ-2-Fehlerrate von β (z. B. $\beta = 0,1$).

Zur Festlegung der Erkennungsgrenze wird angenommen, dass die Prüfperson nicht exponiert war, d. h. die Anzahl der dizentrischen Chromosomen der Prüfperson μ ist gleich der Grundhäufigkeit der dizentrischen Chromosomen μ_0 . Die Nullhypothese ist gegeben durch $\mu = \mu_0$ [bzw. $n\mu = n\mu_0$]. Unter der Annahme, dass das Grundhäufigkeit der dizentrischen Chromosomen konstant ist, d. h. keine Unsicherheit aufweist, kann die Erkennungsgrenze y_d durch die folgende Wahrscheinlichkeit festgelegt werden:

$$P(y > y_d | n_1\mu = n_1\mu_0) = \sum_{k=y_d+1}^{\infty} \frac{e^{-(n_1\mu_0)} (n_1\mu_0)^k}{k!} \frac{e^{-(n_1\mu_0)} (n_1\mu_0)^k}{k!} \quad (4)$$
$$= 1 - \sum_{k=0}^{y_d} \frac{e^{-(n_1\mu_0)} (n_1\mu_0)^k}{k!} \frac{e^{-(n_1\mu_0)} (n_1\mu_0)^k}{k!} \leq \frac{\alpha}{2}$$

Dabei ist

n_1 die Anzahl der bewerteten Zellen für die Prüfperson;

α die Wahrscheinlichkeit für einen Typ-1-Fehler (falsch-positiv), der allgemein mit 5 % angegeben wird.

Wieder unter der Annahme, dass die Anzahl von dizentrischen Chromosomen der Prüfperson einer Poisson-Verteilung unterliegt, wird die Nachweisgrenze für die Anzahl von dizentrischen Chromosomen y_z durch die folgende Gleichung festgelegt:

$$P(y \leq y_d | n_1\mu = y_z) = \sum_{k=0}^{y_d} \frac{e^{-y_z} y_z^k}{k!} = \beta \quad (5)$$

Die letzte Gleichung (Gleichung 000) kann analytisch wie folgt gelöst werden:

$$y_z = \frac{\chi^2_{2(y_d+1), 1-\beta}}{2} \quad (6)$$

Dabei ist/sind

χ^2 das Chi-Quadrat-Quantil (die inverse Chi-Quadrat-Verteilung);

β der Typ-2-Fehler (falsch-negativ), der allgemein zwischen 5 % und 20 % liegen würde;

$2(y_d + 1)$ die entsprechenden Freiheitsgrade.

Ein detailliertes Beispiel für die Berechnung der Erkennungs- und der Nachweisgrenze kann Anhang F entnommen werden.

Es ist erforderlich, die Erkennungs- und die Nachweisgrenze fallweise zu bewerten. Die Nachweisgrenze kann durch Anwendung der Kalibrierkurve in eine „minimale nachweisbare Dosis“ umgewandelt werden, wie in Anhang F dargestellt. In allen Fällen wird jedoch die minimale nachweisbare Dosis durch die niedrigste in der entsprechenden Kalibrierkurve verwendete Dosis beschränkt.

Wenn die beobachtete Anzahl von dizentrischen Chromosomen die Erkennungsgrenze tatsächlich überschreitet, dann bedeutet das, dass es einen Nachweis dafür gibt, die Nullhypothese über das Fehlen einer signifikanten Differenz zwischen dem Hintergrundwert und der beobachteten Anzahl der dizentrischen Chromosomen anzufechten. Die Berechnung der beobachteten absorbierten Dosis sollte dann durchgeführt und nach den Angaben in 12.1.5 gemeldet werden. Andernfalls sollte die Nachweisgrenze gemeldet werden.

Wenn die wahre Anzahl von dizentrischen Chromosomen höher ist als die Nachweisgrenze (oder die wahre Dosis höher ist als die minimale erkennbare Dosis), dann ist die Wahrscheinlichkeit, eine geringere Anzahl von dizentrischen Chromosomen als die Erkennungsgrenze zu beobachten (oder die Wahrscheinlichkeit falschnegative Rückschlüsse herzuleiten), kleiner als β .

12.4 Konfidenzintervall für die Anzahl dizentrischer Chromosomen

Es gibt verschiedene Verfahren zur Ableitung von Konfidenzintervallen für die Anzahl dizentrischer Chromosomen. Konfidenzintervalle bei Poisson-Beobachtungen können durch exakte oder genäherte Berechnungen aus Standardtabellen erhalten werden. Wenn eine gemessene Veränderung im Hinblick auf Poisson überverteilt ist, sollte die aus Poisson hergeleitete Unsicherheit um die Quadratwurzel des Mittelwert-Varianz-Verhältnisses erhöht werden. Oder es sollte ein geeigneteres Modell verwendet werden, um die Verteilung der Veränderungen zu bezeichnen (siehe 10.1.8). Eine andere Möglichkeit kann bei überverteilten Daten darin bestehen, geeignetere Verteilungen anzuwenden, wie die negative Binominal-, Hermite- oder Neyman-Typ-A-Verteilungen, um sowohl das mittlere Ergebnis der Veränderungen als auch den Streufaktor zu berücksichtigen [8]. Das Laboratorium muss das gewählte Modell bzw. die gewählten Modelle begründen und validieren.

Das exakte Poisson-Konfidenzintervall für die beobachtete Anzahl der dizentrischen Chromosomen kann wie folgt berechnet werden:

$$y_L = \frac{\chi^2_{2y, \alpha/2}}{2} \quad (7)$$

$$y_U = \frac{\chi^2_{2(y+1), 1-\alpha/2}}{2} \quad (8)$$

Dabei ist/sind

- χ^2 das Chi-Quadrat-Quantil (die inverse Chi-Verteilung);
- $\alpha/2$ die Wahrscheinlichkeit für eine untere abfallende Kurve (üblicherweise 0,025 für $\alpha = 0,05$);
- $1 - \alpha/2$ die Wahrscheinlichkeit für eine obere abfallende Kurve (üblicherweise 0,975);
- $2y$ oder $2(y + 1)$ die entsprechenden Freiheitsgrade.

12.5 Berechnung der absorbierten Dosis bei Ganzkörperexposition

Wenn die beobachtete überzählige Anzahl von dizentrischen Chromosomen die Erkennungsgrenze nach der obigen Festlegung ausreichend hoch überschreitet, dann sollte die absorbierte Dosis durch einen Vergleich mit einer geeigneten nach der Beschreibung in 11.2 erstellten Kalibrierkurve anhand von Gleichung (1) berechnet werden. Die absorbierte Dosis, D , wird mithilfe kostenlos oder kommerziell erhältlicher Software-Tools durch Lösung der linearen oder quadratischen Gleichungen berechnet. Die Informationen, wie die Berechnungen innerhalb der Software durchgeführt werden, sollten dokumentiert und regelmäßig aktualisiert werden.

Die absorbierte Dosis kann durch Lösen der Gleichung ermittelt werden:

$$D = \frac{-\alpha + \sqrt{\alpha^2 + 4\beta(\mu - C)}}{2\beta} \quad (9)$$

Dabei ist/sind

- C, α, β die Koeffizienten der Kalibrierkurve;
- μ die beobachtete unangepasste Anzahl der dizentrischen Chromosomen der Prüfperson.

12.6 Berechnung der Unsicherheit der absorbierten Dosis

Die sich ergebende Einschätzung der absorbierten Dosis ist angesichts der mit den experimentellen und innewohnenden Unsicherheiten einhergehenden Streuung die bestmögliche Einschätzung. Aus diesem Grund ist es unerlässlich, die Messunsicherheit anhand geeigneter Verfahren einzuschätzen.