

DIN EN ISO 20046



ICS 13.280

Einsprüche bis 2020-12-02

Entwurf

**Strahlenschutz –
Leistungskriterien für Laboratorien, die den
Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierungs-(FISH)-Translokationstest zur
Bewertung der Exposition gegenüber ionisierender Strahlung verwenden
(ISO 20046:2019);
Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 20046:2020**

Radiological protection –
Performance criteria for laboratories using Fluorescence In Situ Hybridization (FISH)
translocation assay for assessment of exposure to ionizing radiation (ISO 20046:2019);
German and English version prEN ISO 20046:2020

Radioprotection –
Critères de performance pour les laboratoires utilisant l'analyse des translocations visualisées
par hybridation in situ fluorescente (FISH) pour évaluer l'exposition aux rayonnements
ionisants (ISO 20046:2019);
Version allemande et anglaise prEN ISO 20046:2020

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2020-10-02 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) oder 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 101 Seiten

DIN-Normenausschuss Radiologie (NAR)

Nationales Vorwort

Der Text von ISO 20046:2019 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 85 „Nuclear energy, nuclear technologies, and radiological protection“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und vom Technischen Komitee CEN/TC 430 „Kernenergie, Kerntechnik und Strahlenschutz“ als EN ISO 20046:2020 übernommen, dessen Sekretariat von AFNOR (Frankreich) gehalten wird.

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

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 5725-1	siehe	DIN ISO 5725-1
ISO 5725-2	siehe	DIN ISO 5725-2
ISO 5725-5	siehe	DIN ISO 5725-5
ISO 11929*	siehe	DIN ISO 11929**
ISO 13528	siehe	DIN ISO 13528
ISO 17099	siehe	DIN EN ISO 17099
ISO 19238	siehe	DIN EN ISO 19238

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

* Zurückgezogen. Nachfolgedokumente: ISO 11929-1 bis ISO 11929-3.

** Zurückgezogen. Nachfolgedokumente: DIN ISO 11929-1 (VDE 0493-9291) bis DIN ISO 11929-3 (VDE 0493-9293).

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

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

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

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

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

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

DIN ISO 11929, *Bestimmung der charakteristischen Grenzen (Erkennungsgrenze, Nachweisgrenze und Grenzen des Vertrauensbereichs) bei Messungen ionisierender Strahlung — Grundlagen und Anwendungen*

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

— Leerseite —

<i>Titel de:</i>	Strahlenschutz — Leistungskriterien für Laboratorien, die den Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierungs-(FISH)-Translokationstest zur Bewertung der Exposition gegenüber ionisierender Strahlung verwenden (ISO 20046:2019)
<i>Titel en:</i>	Radiological protection — Performance criteria for laboratories using Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) translocation assay for assessment of exposure to ionizing radiation (ISO 20046:2019)
<i>Titel fr:</i>	Radioprotection — Critères de performance pour les laboratoires utilisant l'analyse des translocations visualisées par hybridation in situ fluorescente (FISH) pour évaluer l'exposition aux rayonnements ionisants (ISO 20046:2019)

Inhalt

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

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

Europäisches Vorwort

Der Text von ISO 20046:2019 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 85 „Nuclear energy, nuclear technologies, and radiological protection“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und vom Technischen Komitee CEN/TC 430 „Kernenergie, Kerntechnik und Strahlenschutz“ als EN ISO 20046:2020 übernommen, dessen Sekretariat von AFNOR gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

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.

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

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 85, *Nuclear energy, nuclear technologies and radiological protection*, Unterkomitee SC 2, *Radiological protection*, erarbeitet.

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

Einleitung

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

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

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

1 Anwendungsbereich

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

Dieses Dokument behandelt Folgendes:

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

2 Normative Verweisungen

Es gibt keine normativen Verweisungen in diesem Dokument.

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

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

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

3.1

Energiedosis

D

Menge der auf ein festgelegtes Material pro Masseinheit übertragenen ionisierenden Strahlungsenergie

3.2

azentrisches Fragment

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

3.3

Gerinnungshemmer

die Blutgerinnung verzögerndes oder hemmendes Mittel

3.4

Grundhäufigkeit

Grundpegel

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

3.5

Leukozytenfilm

Buffy-Coat

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

3.6

Kalibrierkurve

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

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

3.7

Zentromer

spezieller während der Mitose entstehender eingeschnürter Bereich eines Chromosoms, an dem das Chromatid-Paar zusammenhängt

3.8

Chromatid

einer der beiden Arme eines duplizierten Chromosoms, der durch ein Zentromer gehalten und im Verlauf der Zellteilung abgetrennt wird, sodass zwei einzelne Chromosomen entstehen

3.9

Chromosom

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

3.10

chromosomale Veränderung

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

3.11

Colcemid

Alkaloidverbindung, welche die Ausbildung des Spindelapparats während der Zellteilung hemmt

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

3.12

komplexe Veränderung

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

3.13

Konfidenzintervall

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

3.14

Kovarianz

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

3.15

Erkennungsgrenze

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

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

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

3.16

Nachweisgrenze

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

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

3.17

dizentrisches Chromosom

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

3.18

Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung

FISH

Verfahren, bei dem vorgegebene DNS-Sequenzen als Probenentnahmesonden für bestimmte Teile des Genoms verwendet werden; es erlaubt die Hervorhebung von chromosomalen Bereichen bzw. deren „Färbung“ in unterschiedlichen Farben durch Anhängen verschiedener Fluorochrome

3.19

Fluorochrom

Moleküle, die bei entsprechender Anregung fluoreszieren

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

3.20

genomäquivalent

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

3.21

Einfügung

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

3.22

Interphase

Zeitraum eines Zellzyklus zwischen den mitotischen Teilungen

3.23

lineares Energieübertragungsvermögen

LET, en: linear energy transfer

pro Einheitenlänge eines durchdrungenen biologischen Materials verlorene Strahlungsenergie

3.24

Metaphase

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

3.25

Protokoll für die Veränderungserkennung und Terminologie der Nomenklatur

PAINT, en: protocol for aberration identification and nomenclature terminology

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

3.26

Präzision

Konzept zur Beschreibung der Ergebnisstreuung bei der Messung von Positionen oder zentralen Tendenzen

3.27

Eignungsprüfung

Bewertung der Leistung eines Teilnehmers anhand vorgegebener Kriterien durch Ringversuche

3.28

Qualitätssicherung

QA, en: quality assurance

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

3.29

Qualitätskontrolle

QC, en: quality control

Teil der Qualitätssicherung, mit dem verifiziert wird, dass Systeme und Komponenten den vorbestimmten Anforderungen entsprechen

3.30

durch Strahlung verursachte Translokation

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

3.31

Ring

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

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

3.32

Dienstleistungslaboratorium

Laboratorium für die Durchführung von biologischen Dosimetriemessungen

3.33

stabile Veränderung

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

3.34

stabile Zelle

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

3.35

Translokation

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

3.36

instabile Veränderung

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

4 FISH-Translokationsversuch

4.1 Allgemeines

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

Es gilt allgemein als gesichert, dass aufgrund verschiedener verzerrender Faktoren (wie Ernährung, genotoxische Strahleneinwirkung, Lifestylefaktoren, Fehlverteilung von Geschlechtschromosomen) die Grundhäufigkeit von Translokationen bei Einzelpersonen je nach Alter variiert. Dies ist bei Energiedosis-einschätzungen mithilfe von Translokationsanalysen ein wichtiger zu berücksichtigender Punkt.

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

4.2 Kultivierung und Fixierung

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

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

4.3 Möglichkeiten der Anfärbung

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

Im Folgenden werden einige Beispiele beschrieben:

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

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

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

4.4 Bewertung

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

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

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

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

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

4.5 Allgemeine Anforderungen an das Laboratorium

Das Laboratorium muss über die erforderliche Normausstattung für Lymphozytenkulturen, Zellenverarbeitung, Objektträgervorbereitung und Fluoreszenzmikroskopie zur Bewertung von Zellen verfügen. Das Laboratorium sollte außerdem Dokumente zur Qualitätssicherung führen, einschließlich Aufzeichnungen über Kalibrierung und Wartung der erforderlichen und für Zellkulturen verwendeten Ausstattung.

5 Verantwortung des Kunden

Dieser Abschnitt umfasst mehrere Punkte, die nicht vom Laboratorium beeinflusst werden. Vor der Blutentnahme sollte der Ablauf zwischen Kunde und Dienstleistungslaboratorium koordiniert werden. Dem Kunden sollten wesentliche Anforderungen mithilfe eines genormten Merkblatts nach der Darstellung in Anhang A erläutert werden. Die wesentlichen Punkte sind:

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

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

6 Verantwortung des Laboratoriums

6.1 Einrichtung und Aufrechterhaltung des Qualitätssicherungsprogramms

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

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

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

6.2 Verantwortung während der Dienstleistungserbringung

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

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

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

7 Vertraulichkeit personenbezogener Daten

7.1 Übersicht

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

Diese Anforderung bezieht sich auf

- a) die gesamte schriftliche, elektronische oder mündliche Kommunikation zwischen dem Laboratorium und der die Analyse anfragenden und den Bericht erhaltenden Person bzw. Organisation sowie
- b) die zuverlässig geschützte Aufbewahrung der vertraulichen Angabe innerhalb der Organisation, wo genau sich der Standort des Dienstleistungslaboratoriums befindet.

7.2 Anwendung des Vertraulichkeitsprinzips

7.2.1 Weitergabe von Verantwortungen innerhalb des Laboratoriums

Der Leiter des Laboratoriums kann eine begrenzte Anzahl von Mitarbeitern autorisieren mit den Analyse-dokumenten zu arbeiten. Mitarbeiter mit einer solchen Autorisierung müssen eine Vertraulichkeitsvereinbarung unterschrieben haben, die sich auf ihre Aufgaben innerhalb des Laboratoriums bezieht.

Das Laboratorium muss die unterschriebenen Vertraulichkeitsvereinbarungen aufbewahren und den Schutz und die Sicherheit und aller vertraulichen Dokumente sicherstellen.

7.2.2 Analyseanfragen

In Abhängigkeit von den nationalen Bestimmungen sollte eine Analyseanfrage üblicherweise von einem den Patienten vertretenden Arzt oder dem Patienten selbst erfolgen. Einer solchen Anfrage können aber auch rechtliche Ansprüche zugrunde liegen. In den meisten Fällen muss eine Blutprobe für eine Chromosomenanalyse mit der Einwilligungserklärung des Patienten entnommen werden. Entsprechend den nationalen Vorschriften kann das Laboratorium verpflichtet sein, eine Version der Einwilligungserklärung des Patienten aufzubewahren.

7.2.3 Weiterleitung vertraulicher Daten

Ungeachtet des gewählten Kommunikationsmittels muss während des Informations- und Berichtsaustauschs zwischen dem Dienstleistungslaboratorium und dem Analyseanforderer die Vertraulichkeit aller Daten sichergestellt werden.

Das Laboratorium muss alle Prozesse zur Informationsweitergabe und zur Sicherstellung der Vertraulichkeit festlegen.

7.2.4 Anonymität der Proben

Das Laboratorium muss über bewährte Protokolle zur Aufrechterhaltung der Anonymität von Proben verfügen. Um zu vermeiden, dass Patienten identifiziert werden können, die Analyse der Blutprobe aber dennoch nachverfolgbar bleibt, sollten die Blutproben beim Eintreffen im Dienstleistungslaboratorium codiert werden. Diese Codierung wird in einer eindeutigen Weise nach einem genormten Verfahren durchgeführt. Bei allen Stufen der Analyse wird stets dieser Code verwendet. Dieser wird nach der Festlegung in 7.2.1 durch eine autorisierte Person zugewiesen. Die Decodierung, Auswertung der Prüfergebnisse und Erstellung des Berichts muss ebenfalls von einer autorisierten Person durchgeführt werden.

7.2.5 Ergebnisbericht

Der Abschlussbericht mit den Ergebnissen und ihrer Auswertung (falls erforderlich) wird der die Analyse anfordernden Stelle und den in der Einwilligungserklärung angegebenen Personen/Stellen mitgeteilt. In Abhängigkeit von den nationalen Vorschriften dürfen weitere Kopien, die betreffenden Genehmigungen vorausgesetzt, auch an andere verantwortliche Personen übermittelt werden.

7.2.6 Aufbewahrung von Daten und Ergebnisberichten

Das Laboratorium muss festlegen, wie Daten und Ergebnisberichte aufbewahrt werden. Sämtliche einen Fall betreffende laboratoriumsinterne Dokumente sowie alle Hinweise auf eine Identifizierung des Patienten und/oder Mitarbeiters müssen an einem Ort gelagert werden, der nur autorisierten Personen zugänglich ist. Die Dokumente müssen an einem geeigneten Ort über einen vom Laboratorium festgelegten Zeitraum für eine mögliche medizinisch-rechtliche Neubewertung des Falls aufbewahrt werden. Die endgültige Entsorgung der Dokumente muss auf sichere Weise erfolgen, zum Beispiel durch Aktenvernichtung.

8 Sicherheitsanforderungen im Laboratorium

8.1 Übersicht

In Hinblick auf die Sicherheit in den Laboratorien müssen deren Mitarbeiter sowohl die nationale Rechtslage als auch die Bestimmungen der Einrichtung einhalten. Einige besondere Merkmale im Hinblick auf die Sicherheit in Dienstleistungslaboratorien seien an dieser Stelle hervorgehoben. Zu diesen zählen mikrobiologische, chemische und optische Überlegungen.

WARNUNG — Bei der Anwendung dieser Europäischen Norm ist es möglich, dass gefährliche Substanzen, Arbeitsgänge und Geräte angewendet werden. Sie beansprucht nicht, alle damit verbundenen Sicherheits- oder Umweltprobleme zu behandeln. Es liegt in der Verantwortung der Anwender dieses Dokuments, vor ihrer Anwendung geeignete Maßnahmen für die Sicherheit und den Gesundheitsschutz des Personals zu ergreifen und die behördlichen und gesetzlichen Anforderungen für diesen Zweck zu erfüllen.

8.2 Mikrobiologische Sicherheitsanforderungen

Der Umgang mit menschlichem Blut geht für die Mitarbeiter des Laboratoriums mit einem gewissen Risiko von durch Blut übertragenen Krankheitserregern einher. Alle Proben müssen als potenziell infektiös angesehen werden, auch wenn sie bekanntermaßen von offenkundig gesunden Personen stammen. Mitarbeitern sollten verfügbare Impfungen gegen betreffende durch Blut übertragene Erkrankungen angeboten werden.

8.3 Chemische Sicherheitsanforderungen

Bei den in diesem Dokument behandelten Verfahren werden regelmäßig bestimmte Chemikalien und Pharmazeutika eingesetzt. In Kulturen und bei Anfärbverfahren werden diese zumeist in geringen Quantitäten und in Verdünnungen genutzt, die im Allgemeinen keine Gesundheitsgefährdung darstellen. Sie werden allerdings in konzentrierten Stammlösungen vorbereitet und gelagert. Die problematischen Hauptreagenzien und ihre international vereinbarten Gefahrenhinweise (H-Sätze) nach dem GHS-Klassifizierungssystem 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

Reagens	Gefahrenhinweis
4',6-Diamidin-2-phenylindol (DAPI)	H315, H317, H335
Essigsäure	H226, H314
Benzylpenicillin	H317, H334
Colcemid	H300
Ethanol	H225, H319
Formamid	H351, H360, H373
Hoechst-Farbstoff (bisBenzimid)	H302, H315, H319
Methanol	H225, H301, H311, H331, H370
Propidiumiodid	H315, H319, H335, H341
Phytohämagglutinin (PHA)	H302, H317, H332
Streptomycinsulfat	H302, H361

Tabelle 2 — Gefahrenschlüssel

Gefahrenhinweis	Schlüssel
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 Allergien, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen.
H335	Kann die Atemwege reizen.
H341	Kann vermutlich genetische Defekte verursachen.
H351	Kann vermutlich Krebs erzeugen.
H360	Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen.
H361	Kann vermutlich die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen.
H370	Schädigt die Organe
H373	Schädigt bei längerer oder wiederholter Exposition die Organe.

8.4 Optische Sicherheitsanforderungen

Wenn bei der Sterilisierung des Innenraums eines mikrobiologischen Sicherheitsschranks ultraviolette Lampen verwendet oder während eines FISH-Verfahrens Objektträger mit dem Harlekin-Anfärbeverfahren bearbeitet werden, müssen Abschirmungen vorhanden sein und Arbeitsverfahren vorliegen, mit denen die unmittelbare Strahlungseinwirkung auf die Haut oder die Augen von Laboratoriumsmitarbeitern vermieden wird.

8.5 Sicherheitsplan

Das Laboratorium muss schriftliche Sicherheitsverfahren für den Schutz vor mikrobiologischen, chemischen und optischen Gefährdungen festlegen.

Das Laboratorium muss alle Unfälle protokollieren und über Protokolle oder Verfahren verfügen, um vergleichbare Unfälle künftig zu vermeiden.

9 Durchführung der Probenahme

9.1 Kultivierung und Anfärbung

Für die Herstellung der Kalibrierkurven und die Analyse der Veränderungen bei Verdacht auf übermäßige Strahleneinwirkung müssen die gleichen Kultivierungsbedingungen verwendet werden.

Das genaue Protokoll für den FISH-Translokationstest muss von jedem Laboratorium einzeln entwickelt werden. Es gibt dabei einige wichtige Punkte, die beachtet werden müssen und nachfolgend aufgeführt sind.

- a) Zur Herstellung der Kalibrierkurven muss Blut unmittelbar nach der Bestrahlung und vor der Kultivierung für mindestens 2 h bei 37 °C inkubiert werden.
- b) Die Zellen müssen entweder als Vollblut – als angereicherte Lymphozytensuspension (Buffy-Coat) – oder als isolierte Lymphozyten bei 37 °C ± 1 °C kultiviert werden.
- c) Die Kulturgefäße müssen steril sein und so verwendet werden, dass eine mikrobielle Kontamination vermieden wird.
- d) Es müssen spezielle Kulturmedien verwendet werden, welche die Ausbreitung von peripheren Blut-Lymphozyten erlauben. Beispielsweise werden allgemein 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 IU·ml⁻¹/100 µg·ml⁻¹) verwendet.
- e) Den Medien muss ein Mitogen (z. B. PHA) hinzugegeben werden, um die Lymphozyten zur Mitose anzuregen.
- f) Außerdem muss zur Zellkultur zu einem Zeitpunkt und in einer Konzentration, die beide vom Laboratorium bestimmt werden, Colcemid hinzugefügt werden, um die Mitose der Zellen zu blockieren.
- g) Die Zellen werden zentrifugiert, um die Zellen vom Medium zu trennen. Anschließend müssen die Zellen für 10 min bis 15 min mit einer hypotonischen Lösung, wie beispielsweise 0,075 mol/l KCl, behandelt werden, um die Zellen vor der Fixierung anschwellen zu lassen.
- h) Nach der Zentrifugierung müssen der Überstand entfernt und die Zellen in einer frisch vorbereiteten Fixierlösung (Essigsäure zu Methanol im Verhältnis 1 : 3) fixiert und drei- oder viermal mit dem Fixiermittel gewaschen werden, bis die Zellsuspension klar ist.
- i) Wenn die Lagerung fixierter Zellen erforderlich ist, dann müssen die Zellsuspensionen bei –20 °C tiefgekühlt aufbewahrt werden.
- j) Objektträger müssen vorbereitet werden, um eine eindeutige Identifizierung von chromosomalen Veränderungen zu ermöglichen. Feuchtigkeit und Temperaturbedingungen können angepasst werden, um die Qualität der Metaphasen zu verbessern.
- k) Objektträger müssen nach den im jeweiligen Laboratorium festgelegten Protokollen angefärbt werden.
- l) Objektträger müssen bei einer Temperatur von weniger als 4 °C aufbewahrt werden.

9.2 Bewertung

9.2.1 Bewertungskriterien

9.2.1.1 Codierung von Proben und Objektträgern

Alle Proben, Objektträger und laboratoriumsinterne oder -übergreifende Validierungsnormen müssen codiert werden. Alle Codierungen müssen vollständig aufgezeichnet und aufbewahrt werden.

9.2.1.2 Bewertungsverfahren

Das Laboratorium muss die für die Bewertung verwendeten Verfahren einrichten und umsetzen. Wenn die Bewertung zumindest teilweise mithilfe von computerunterstützter Metaphasenfeststellung und/oder Bildanalyse durchgeführt wird, dann sollte das verwendete System zuvor einer Qualitätssicherungsprüfung mit dokumentierten Ergebnissen unterzogen worden sein.

Eine methodische Erfassung der Objektträger ist entscheidend, damit bei der Analyse sichergestellt wird, dass keine Zelle mehr als einmal bewertet wird. Es wird empfohlen, dass von jeder Probe mehr als ein Objektträger bewertet wird.

Es ist in Dienstleistungslaboratorien bei allen chromosomalen Veränderungen gängige Praxis, dass diese aufgezeichnet werden, unabhängig davon, ob die Zelle stabil oder instabil ist. Es wird empfohlen, dass für die Erstellung der Kalibrierkurven nur Translokationen in stabilen Zellen verwendet werden, wenn diese Kurven für eine retrospektive Dosimetrie verwendet werden sollen. Eine andere Möglichkeit besteht darin, dass die Laboratorien ihre eigenen eingerichteten Verfahren für die zu analysierenden Fälle verwenden.

Translokationen werden zur Einschätzung der Energiedosis verwendet und können als einfach oder als komplex bezeichnet werden. Im zweiten Fall sind bei zwei oder mehr Chromosomen drei oder mehr Brüche erforderlich, um die beobachtete(n) chromosomale(n) Veränderung(en) herzustellen. Allerdings ermöglicht die Anfärbung nur eines Teils der Chromosomen nicht die Erkennung des Ursprungs aller wieder verbundenen Teile. Daher können einfache Veränderungen nur als „offenbar“ einfach angesehen werden. Alle Arten von Translokationen in stabilen Zellen dürfen bei Einschätzungen der Energiedosis verwendet werden, solange die gleiche Translokationsart konsistent verwendet wird. Wenn in der Kalibrierkurve komplexe Veränderungen vorhanden sind, müssen sie nach den festgelegten Regeln des Laboratoriums in die entsprechende Zahl einfacher Translokationen umgewandelt werden.

Derzeit werden verschiedene Klassifizierungssysteme für chromosomale Veränderungen genutzt. In einem PAINT-System beispielsweise wird eine wechselseitige Translokation zwischen einem angefärbten und einem gegengefärbten Chromosom als t(Ab) plus t(Ba) bezeichnet und als eine Translokation bewertet, bei der „A“ und „a“ das gegengefärbte Material und „B“ und „b“ das angefärbte Material darstellen. Bei diesem Bewertungssystem steht der Großbuchstabe für den Teil des Chromosoms, der das Zentromer enthält und der Kleinbuchstabe für den Teil des Chromosoms, dem das Zentromer fehlt. Manchmal sind nicht alle Austausche sichtbar, und in der Metaphase kann nur ein t(Ba) oder ein t(Ab) festgestellt werden. Diese Veränderungen können auch stabil sein und werden als unvollständig oder einseitige Translokationen bezeichnet. Der Hauptgrund für diese Art von einseitigen Veränderungen ist die Auflösungsgrenze des Anfärbungsverfahrens, bei dem das entsprechende Gegenstück zu klein ist um dargestellt zu werden. Ein dizentrisches Chromosom aus einem angefärbten und einem gegengefärbten Chromosom wird mit dic(AB) ace(ab) bezeichnet.

Für die aufgezeichneten Daten muss ein genormtes Bewertungsblatt verwendet werden, sodass die Anzahl der Veränderungen in jeder Zelle hergeleitet werden kann. Ein Beispiel hierfür ist in Anhang D enthalten.

9.2.2 Umwandlung von Translokationshäufigkeiten in Genomäquivalenzen

Damit ein Vergleich der Daten von verschiedenen Chromosomensätzen möglich ist, ist es empfehlenswert, Korrekturen der Genomäquivalenzen auf die Translokationshäufigkeiten anzuwenden. Je nach den auf Laboratoriumsebene verfügbaren Daten sollte dies sowohl an den Daten der Kalibrierkurve (vor der Kurvenanpassung) als auch an den beobachteten (durch Strahlung verursachten) überzähligen Translokationen durchgeführt werden. In diesem Fall sollte die Lucas-Gleichung [4] angewendet werden, um anhand von Gleichung (1) die proportionale Anzahl der Veränderungen zu berechnen, die beobachtet worden wären, wenn das gesamte Genom angefärbt worden wäre.

$$f_P / f_G = 2,05 \left[\sum_i F_i(1 - F_i) - \sum_{i < j} F_i F_j \right] \quad (1)$$

Dabei ist

- f_P die mit FISH gemessene Translokationshäufigkeit;
- f_G die äquivalente Translokationshäufigkeit des vollständigen Genoms;
- F_i der Anteil des in jeder Farbe i angefärbten Genoms, der aus IAEA (2011) [5] entnommen werden kann.

Die Berechnung kann mithilfe von frei verfügbaren Software-Tools durchgeführt werden, die in der Gemeinschaft erstellt wurden [6] [7].

In jedem Fall sollte stets ein konsistenter Ansatz mit Kalibrierung und Bewertung eines Falls angenommener übermäßiger Strahleneinwirkung verwendet werden.

10 Grundhäufigkeit von Translokationen

Für den Zweck der Strahlungs-Biodosimetrie anhand der Translokationshäufigkeit bei Lymphozyten wird angenommen, dass die Grundhäufigkeit von Translokationen vor der Einwirkung ionisierender Strahlung der mittleren Translokationshäufigkeit nicht strahlungsbelasteter Zellen gleichen Alters entspricht. Im besten Fall umfassen die Datensätze der Grundhäufigkeit von Translokationen die Ergebnisse von mindestens drei Altersgruppen, die 1 Jahr bis 25 Jahre, 26 Jahre bis 50 Jahre und 51 Jahre bis 80 Jahre alt sind und in jeder Gruppe mindestens 5 Einzelpersonen beinhalten, sodass für die unterschiedlichen Altersgruppen Grundwerte vorhanden sind.

Falls ein Laboratorium nicht über eigene altersbezogene Grundhäufigkeitsdaten verfügt, stellt eine umfassende Metaanalyse von Sigurdson *et al.* 2008 [8] mit Unterteilungen nach Alter, Geschlecht, ethnischer Herkunft und Nikotinkonsum derzeit die beste internationale Datenbank dar. Aus dieser Studie wird deutlich, dass das Alter der wesentliche Faktor ist, der die Grundhäufigkeit von Translokationen bestimmt. Diese Studie beinhaltet eine große Zahl von Personen in jeder Altersgruppe. Daher kann sie unter folgender Annahme als Kontrollwert genutzt werden:

- Die Haupthäufigkeit von Translokationen dieser Veröffentlichung wurde anhand von mindestens zwei Proben aus jeder Altersgruppe bestätigt. Wenn zwischen den veröffentlichten Daten und den untersuchten Proben keine Abweichung festgestellt wird, können die veröffentlichten Daten vom Dienstleistungslaboratorium als Kontrollgruppe verwendet werden.
- Die Verweisung auf derlei veröffentlichte Daten wird im Bericht erwähnt.

Unabhängig vom verwendeten Ansatz wird empfohlen, zumindest 500 genomäquivalente Zellen pro Spender oder 100 Translokationen zu bewerten [siehe Gleichung (1)].

Da zahlreiche verzerrende Faktoren zu lang anhaltenden Translokationen führen können, muss ein exakter Fragebogen entwickelt werden, mit dem alle bekannten relevanten genotoxischen Strahleneinwirkung abgefragt werden, insbesondere vorangegangene medizinisch-radiologische Bestrahlungen. Eine rückwirkende Einschätzung der Energiedosis ist nicht möglich, wenn eine möglicherweise einer Strahleneinwirkung ausgesetzte Person in der Vergangenheit eine Strahlentherapie erhalten hat. Bei der Bewertung der Energiedosis von strahlungsbelasteten Arbeitern sollten früher akkumulierte Einwirkungen entsprechend berücksichtigt werden.

11 Kalibrierkurven

11.1 Kalibrierungsquelle

Das Laboratorium muss einen von einer kompetenten Person (d. h. von einem Radiologen oder von einem Vertreter des Laboratoriums) überarbeiteten und freigegebenen Bericht vorlegen, der die folgenden Punkte umfasst:

- a) Beschreibung der Strahlungsqualität [z. B. Philips Röntgengerät mit 2,1 mm Cu Halbwertschichtdicke (HVL, en: half value layer), 250 kVp, Filamentstrom 12,5 mA und einem Quelle-Oberflächen-Abstand (SSD, en: source-to-surface distance) von 50 cm] für alle zur Erstellung von In-vitro-Kalibrierkurven verwendeten Strahlungsquellen;
- b) Charakterisierung der für jede In-vitro-Kalibrierkurve verwendete(n) Strahlungsquelle(n) sowie Verfolgbarkeit einer nationalen/internationalen Strahlungsnorm;
- c) Beschreibung des Dosimetrieprotokolls, einschließlich der Einzeldaten zur gemessenen Strahlungsmenge, Verfahren zur Zertifizierung, dass das Dosimetrieverfahren nach einer Norm kalibriert wurde, Verfahren zur Messung der Strahlungsgleichförmigkeit im experimentellen Versuch sowie schriftliches Verfahren und Dokumentation zur Verifizierung der Dosis- und Dosisratenbestimmungen bei einzelnen Experimenten;
- d) Bereitstellung eines zusammenfassenden Dosimetrieberichts für die Dosis-Wirkungs-Kurve jeder Strahlungsquelle.

Weitere Einzelheiten zu Bestrahlungsparametern und -bedingungen können dem IAEA-Handbuch [5] entnommen werden.

11.2 Festlegen der Kalibrierkurve(n)

Die Auswahl der Strahlungsquellen für die Kalibrierkurven sollte die wahrscheinlichsten zu analysierenden Fälle widerspiegeln. Es muss auf jeden Fall sichergestellt werden, dass die Ergebnisauswertung die Strahlungsqualität der Kalibrierkurve berücksichtigt. Üblicherweise sollten akute Dosisraten von über 0,1 Gy/min gewählt werden, außerdem muss die Kalibrierungsquelle nach nationalen Normen nachvollziehbar sein. Die Kalibrierkurve kann an einfach beobachtete oder genomäquivalente (ein- oder wechselseitige) Translokationen (siehe 9.2.2) oder an die insgesamt in stabilen Zellen vorhandenen Translokationen angepasst werden. Unter der Annahme, dass die Kalibrierkurve unter den gleichen experimentellen Bedingungen und mit derselben Expertisenbewertung festgelegt wird, entscheidet das Laboratorium, welche Art von Translokation verwendet wird.

Es sollten mindestens 7 Dosen ausgewählt werden. Dabei sollten wenigstens 5 Dosen unter 1 Gy (einschließlich 0 Gy) liegen. Die typischen Dosen für eine Kalibrierkurve liegen bei niedriger LET-Strahlung (z. B. durch Photonen) von 0,1 Gy bis 3 Gy. Die Auswahl dieser beiden Dosispunkte ist entscheidend, da sie die niedrigste und die höchste Dosis festlegen, die das Laboratorium melden darf.

Bei hoher LET-Strahlung (z. B. durch Neutronen) liegt die obere Dosisgrenze wegen der hohen Zellschäden bei höheren Dosen üblicherweise bei 1 Gy. Es wird empfohlen, dass 500 genomäquivalente Zellen bewertet werden.

Bei niedriger LET-Strahlung wird empfohlen, dass bei Energiedosen von unter 1 Gy 2 000 genomäquivalente Zellen bewertet werden. Bei Energiedosen von über 1 Gy wird die Bewertung von 500 genomäquivalenten Zellen empfohlen. Höhere Zahlen von bewerteten Zellen verringern die Unsicherheit der Energiedosis-einschätzungen.

Die einfachste empfohlene Methode, um die mit der Alterskorrektur einhergehenden Unsicherheiten (siehe 12.1.4) zu verringern, besteht darin, mehrere auf Einzelpersonen unterschiedlicher Altersgruppen basierte Kalibrierkurven anzupassen.

Die folgenden Definitionen werden für weitere Berechnungen verwendet:

- y : beobachtete Translokationen: die absolute Anzahl von in n_1 genomäquivalenten Zellen beobachteten Translokationen;
- μ : Ergebnis beobachteter Translokationen: die beobachtete Anzahl von Translokationen je genomäquivalenter Zelle ohne Korrektur der Grundhäufigkeit;
- y' : überzählige Translokationen: die absolute Anzahl von in n_1 genomäquivalenten beobachteten Translokationen mit Korrektur der Grundhäufigkeit;
- μ' : Ergebnis überzähliger Translokationen: beobachtete Anzahl von durch Strahlung verursachten Translokationen je äquivalenter Zelle; mit Korrektur der Grundhäufigkeit von Translokationsergebnissen.

Das beobachtete Translokationsergebnis μ (oder μ' , falls bevorzugt) sollte an die linearen oder linear-quadratischen Modelle angepasst werden [Gleichung (2)].

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

Dabei ist

$$\mu = \frac{y}{n_1}$$

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

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

Dabei ist/sind

D	die absorbierte Dosis;
α, β, C	die Koeffizienten der Anpassung an das linear-quadratische Modell;
SE	der Standardfehler der Koeffizienten;
R^2	der Koeffizient der Bestimmung und die 95%-Konfidenzgrenze einer Chi-Quadrat-Verteilung χ^2 (Freiheitsgrad, 95 %), mit 2 oder 3 Freiheitsgraden; bei einer linear-quadratischen Kurve (Freiheitsgrade = 3) ist χ^2 gleich 7,81, bei einer linearen Kurve 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. Bei ansteigendem LET konvergiert der Koeffizient β gegen Null. Sobald dieser Wert statistisch nicht mehr signifikant ist, sollte das lineare Modell verwendet werden. In diesem Fall sollten die Daten, mit Ausnahme von βD^2 aus Gleichung (2), an ein lineares Modell angepasst werden.

Für die Kurvenanpassung werden zwei Methoden vorgeschlagen, und zwar die iterativ neu gewichtete Methode der kleinsten Quadrate und die Methode der größten Wahrscheinlichkeit (siehe Anhang E) [9] [10]. Als eine Mindestanforderung, wenn der erhaltene Wert des Chi-Quadrats höher ist als der Freiheitsgrad, sollten die Standardfehler 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. Mehrere dieser Softwarepakete wurden von der internationalen biologischen Dosimetrie-Gemeinschaft entwickelt und sind kostenlos erhältlich [6] [7]. 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 Person überarbeiteten und freigegebenen Bericht vorlegen, der die folgenden Punkte 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 einer gemessenen Veränderungshäufigkeit in eine Energiedosiseinschätzung

12.1 Bestimmung der eingeschätzten Ganzkörper-Energiedosis und der Konfidenzgrenzen

12.1.1 Allgemeines

Bei der Bestimmung der Energiedosis anhand der Translokationshäufigkeit müssen mehrere Faktoren berücksichtigt werden, einschließlich Alter, Zeitverzögerung zwischen Strahleneinwirkung und Analyse, berufsbedingter Belastung durch Chemikalien und anderen verzerrenden Faktoren. Alle diese Faktoren können die Unsicherheit bei der Einschätzung der Energiedosis erhöhen und müssen fallweise berücksichtigt werden.

Sofern ausreichende Daten verfügbar sind, muss das Dienstleistungslaboratorium in den Ergebnisberichten die eingeschätzte Ganzkörper-Energiedosis und die Konfidenzgrenzen angeben. Unsicherheiten sollten anhand der kombinierten Standardmessunsicherheit und der erweiterten Messunsicherheit als 95%-Konfidenzgrenzen angegeben werden. Dabei muss beachtet werden, dass Unsicherheiten nach ISO/IEC Guide 98-3 [11] durch die gesamte Analyse propagiert werden sollten. Andere charakteristische Grenzen (Erkennungs- und Nachweisgrenze) oder Konfidenz-Prozentwerte sollte ebenfalls berichtet werden, sofern dies im betreffenden Fall nach der folgenden Darstellung angemessen ist.

12.1.2 Vergleich mit dem Grundpegel: Charakterisierung der erkennbaren Minstdosis

In ISO 11929 werden zwei charakteristische Grenzwerte festgelegt:

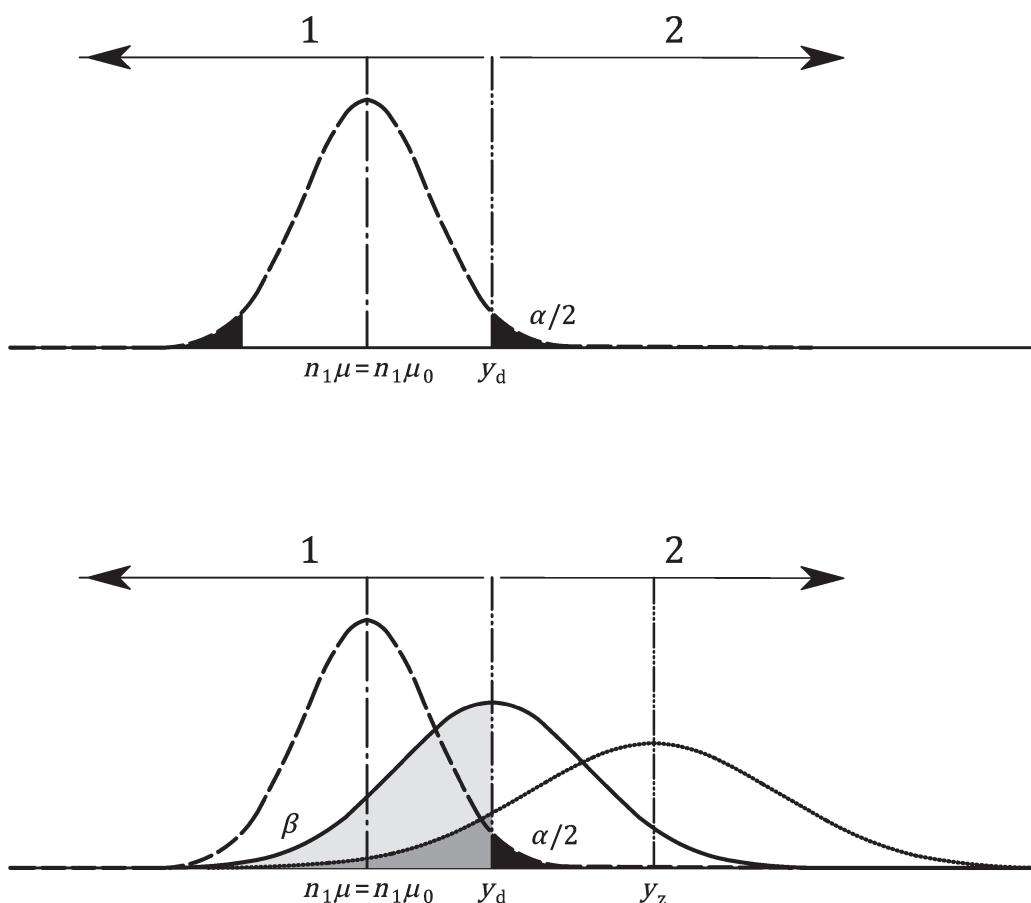
- die Erkennungsgrenze (y_d) oder die mindestens auflösbare Anzahl von Translokationen, also der Grenzwert, oberhalb dessen angenommen werden kann, dass die physischen Effekte quantifizierbar sind. Mit anderen Worten kann die Erkennungsgrenze als die Mindestanzahl von Translokationen verstanden werden, die sich signifikant, also um ein bestimmtes Signifikanzniveau α (z. B. $\alpha = 0,05$) von der erwarteten Grundhäufigkeit von Translokationen unterscheidet.
- Die Nachweisgrenze (y_z) ist der kleinste wahre Wert der Messgröße (Anzahl von Translokationen), 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 Translokationen zeigt, die über der Erkennungsgrenze liegt, so kann die Nullhypothese (H_0), das heißt die Annahme, dass die Prüfperson nicht exponiert war oder dass das beobachtete Translokationsergebnis gleich der Grundhäufigkeit von Translokationen ist, mit einer Typ-1-Fehlerbewertung $\frac{\alpha}{2}$ zurückgewiesen werden. Dann wird geschlossen, dass eine physische Wirkung vorhanden ist und damit eine Dosiseinschätzung durchgeführt werden sollte. Liegt das Ergebnis 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 von Translokationen unter der Erkennungsgrenze liegt, muss die Nachweisgrenze gemeldet werden. Die Nachweisgrenze liefert wertvolle Daten zur wahren Dosis (oder Anzahl von Translokationen), oberhalb der weniger als $100 \cdot \beta$ % 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/Translokationszahl der Prüfperson über der Nachweisgrenze wäre die Wahrscheinlichkeit, dass eine Translokationszahl unterhalb der Erkennungsgrenze erkannt und damit ein falsch-negativer Rückschluss hergeleitet werden kann, kleiner als β .



Legende

1	H_0 angenommen	—	Probenahmeverteilung unter H_1 (Mittelwert bei y_d)
2	H_0 zurückgewiesen	—	Probenahmeverteilung unter H_1 (Mittelwert bei y_z)
---	Probenahmeverteilung 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. das Translokationsergebnis μ der Prüfperson ist gleich der Grundhäufigkeit von Translokationen μ_0), dann ist die Wahrscheinlichkeit für eine fälschliche Zurückweisung von H_0 oder für die Beobachtung einer Translokationszahl, 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 Translokationen 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 Translokationen 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. das Translokationsergebnis der Prüfperson μ ist gleich der Grundhäufigkeit von Translokationen $\mu_0(j)$ für eine Person im Alter von j Jahren. Die Nullhypothese wird angegeben durch $\mu = \mu_0(j)$ [bzw. $n_1\mu = n_1\mu_0(j)$]. Unter der Annahme, dass die Grundhäufigkeit von Translokationen konstant ist, d. h. keine Unsicherheit aufweist, kann die Erkennungsgrenze y_d durch die folgende Wahrscheinlichkeit festgelegt werden:

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

Dabei ist

n_1 die Anzahl der genomäquivalenten Zellen für die Prüfperson;

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

Unter der Annahme, dass die Grundhäufigkeit von Translokationen einer Poisson-Verteilung unterliegt, d. h. der Grundwert eine Unsicherheit aufweist, kann die Nullhypothese durch $\frac{\mu}{\mu_0(j)} = 1$ festgelegt werden. Die Erkennungsgrenze kann dann durch Auflösung der folgenden Gleichung nach y_d erhalten werden.

$$P[y > y_d | \mu = \mu_0(j)] = 1 - \sum_{k=0}^{y_d} \left[\frac{n_0\mu_0(j) + y_d + 1}{k} \right] \left(\frac{n_1}{n_1 + n_0} \right)^k \left(1 - \frac{n_1}{n_1 + n_0} \right)^{n_0\mu_0(j) + y_d + 1 - k} \leq \frac{\alpha}{2} \quad (5)$$

Dabei ist

n_0 die Anzahl der genomäquivalenten Zellen für die Grundwertdaten;

$\left[\frac{n_0\mu_0(j) + y_d + 1}{k} \right]$ der relevante Binominalkoeffizient in diesem Fall.

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

$$P[y < y_d | n_1\mu = y_z] = \sum_{k=0}^{y_d} \frac{e^{-y_z} y_z^k}{k!} = \beta \quad (6)$$