INSO
8662
1st Revision

2018

Modification of
ISO 19238:
2014

جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran
سازمان ملی استاندارد ایران

Iranian National Standardization Organization

استاندارد ملی ایران
۸۶۶۲
تجدیدنظر اول

۱۳۹۷

حفاظت پرتوی- معیارهای کارایی برای آزمایشگاه‌های دُزسنجی بیولوژیکی با استفاده از روش‌های سیتوژنتیک

Radiological protection– Performance criteria for service laboratories performing biological dosimetry by cytogenetics

ICS: 13.280; 17.240

استاندارد ملی ایران شماره ۸۶۶۲ (تجدید نظر اول): سال ۱۳۹۷

سازمان ملی استاندارد ایران

تهران، ضلع جنوب غربی میدان ونک، خیابان ولیعصر، پلاک ۲۵۹۲

صندوق‌پستی: ۶۱۳۹-۱۴۱۵۵ تهران- ایران

تلفن: ۵-۸۸۸۷۹۴۶۱

دورنگار: ۸۸۸۸۷۰۸۰ و ۸۸۸۸۷۱۰۳

کرج، شهر صنعتی، میدان استاندارد

صندوق پستی: ۱۶۳-۳۱۵۸۵ کرج - ایران

تلفن: ۸-۳۲۸۰۶۰۳۱ (۰۲۶)

دورنگار: ۳۲۸۰۸۱۱۴ (۰۲۶)

رایانامه: standard@isiri.gov.ir

وبگاه: http://www.isiri.gov.ir

Iranian National Standardization Organization (INSO)

No. 2592 Valiasr Ave., South western corner of Vanak Sq., Tehran, Iran

P. O. Box: 14155-6139, Tehran, Iran

Tel: + 98 (21) 88879461-5

Fax: + 98 (21) 88887080, 88887103

Standard Square, Karaj, Iran

P.O. Box: 31585-163, Karaj, Iran

Tel: + 98 (26) 32806031-8

Fax: + 98 (26) 32808114

Email: standard@isiri.gov.ir

Website: http://www.isiri.gov.ir

به نام خدا

آشنایی با سازمان ملی استاندارد ایران

سازمان ملی استاندارد ایران به‌موجب بند یک مادهٔ ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن‌ماه ۱۳۷۱ تنها مرجع رسمی کشور است که وظیفهٔ تعیین، تدوین و نشر استانداردهای ملی (رسمی) ایران را به عهده دارد.

تدوین استاندارد در حوزه‌های مختلف در کمیسیون‌های فنی مرکب از کارشناسان سازمان، صاحب‌نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می‌شود و کوششی همگام با مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فناوری و تجاری است که از مشارکت آگاهانه و منصفانهٔ صاحبان حق و نفع، شامل تولیدکنندگان، مصرف‌کنندگان، صادرکنندگان و وارد-کنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان‌های دولتی و غیردولتی حاصل می‌شود. پیش‌نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی‌نفع و اعضای کمیسیون‌های مربوط ارسال می‌شود و پس از دریافت نظرها و پیشنهادها در کمیتهٔ ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب، به‌عنوان استاندارد ملی (رسمی) ایران چاپ و منتشر می‌شود.

پیش‌نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان‌های علاقه‌مند و ذی‌صلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین‌شده تهیه می‌کنند در کمیته ملی طرح، بررسی و در صورت تصویب، به‌عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می‌شود. بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می‌شود که بر اساس مقررات استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۵ تدوین و در کمیتهٔ ملی استاندارد مربوط که در سازمان ملی استاندارد ایران تشکیل می‌شود به تصویب رسیده باشد.

سازمان ملی استاندارد ایران از اعضای اصلی سازمان بین‌المللی استاندارد (ISO)[1]، کمیسیون بین‌المللی الکتروتکنیک (IEC)[2] و سازمان بین‌المللی اندازه‌شناسی قانونی (OIML)[3] است و به‌عنوان تنها رابط[4] کمیسیون کدکس غذایی (CAC)[5] در کشور فعالیت می‌کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی‌های خاص کشور، از آخرین پیشرفت‌های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین‌المللی بهره‌گیری می‌شود.

سازمان ملی استاندارد ایران می‌تواند با رعایت موازین پیش‌بینی‌شده در قانون، برای حمایت از مصرف‌کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست‌محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشور و/یا اقلام وارداتی، با تصویب شورای عالی استاندارد، اجباری کند. سازمان می‌تواند به‌منظور حفظ بازارهای بین‌المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه‌بندی آن را اجباری کند. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده‌کنندگان از خدمات سازمان‌ها و مؤسسات فعال در زمینهٔ مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدور گواهی سیستم‌های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست‌محیطی، آزمایشگاه‌ها و مراکز واسنجی (کالیبراسیون) وسایل سنجش، سازمان ملی استاندارد این‌گونه سازمان‌ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می‌کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامهٔ تأیید صلاحیت به آن‌ها اعطا و بر عملکرد آن‌ها نظارت می‌کند. ترویج دستگاه بین‌المللی یکاها، واسنجی وسایل سنجش، تعیین عیار فلزات گران‌بها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی ایران از دیگر وظایف این سازمان است.

1- International Organization for Standardization
2- International Electrotechnical Commission
3- International Organization for Legal Metrology (Organisation Internationale de Metrologie Legals)
4- Contact point
5- Codex Alimentarius Commission

کمیسیون فنی تدوین استاندارد

«حفاظت پرتوی- معیارهای کارایی برای آزمایشگاه‌های دُزسنجی بیولوژیکی با استفاده از روش‌های سیتوژنتیک»

رئیس:	**سمت و/یا محل اشتغال:**
مزدارانی، حسین (دکتری رادیوبیولوژی و ژنتیک پزشکی)	آزمایشگاه ژنتیک پزشکی سیتوژنوم
دبیر:	
حائری، سید ابوالقاسم (دکتری فیزیک پزشکی)	پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای
اعضا: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)	
جانعلی‌پور شهرانی، محمدرضا (کارشناسی ارشد فیزیک)	پژوهشکده سیستم‌های پیشرفته صنعتی
جزایری قره‌باغ، الهه (دکتری فیزیک پزشکی)	دانشگاه علوم پزشکی تهران- دانشکده پیراپزشکی
خادم شریعت، هاجر (کارشناسی ارشد فیزیک پزشکی)	مرکز نظام ایمنی هسته‌ای کشور
راستخواه، الهام (کارشناسی ارشد بیوفیزیک)	انجمن حفاظت در برابر اشعه ایران
رجب‌پور، محمدرضا (کارشناسی ارشد بیولوژی)	مرکز نظام ایمنی هسته‌ای کشور
سمیع‌پور، فرهاد (کارشناسی ارشد مهندسی شیمی)	پژوهشکده سیستم‌های پیشرفته صنعتی
محمودزاده، عزیز (دکتری ایمنی‌شناسی پزشکی)	انیستیتو پرتو پزشکی نوین
موسوی‌زاده، سید علی (کارشناسی ارشد ژنتیک)	مرکز نظام ایمنی هسته‌ای کشور

ویراستار:

صیادی، سعید — شرکت تولیدی مهندسی بهساز طب
(کارشناسی ارشد مهندسی برق- الکترونیک)

فهرست مندرجات

عنوان **صفحه**

پیشگفتار ح
مقدمه ط
۱ هدف و دامنه کاربرد ۱
۲ تعاریف و اصطلاحات ۲
۳ سنجش دی‌سانتریک ۶
۴ مسئولیت‌های درخواست‌کننده ۷
۵ مسئولیت‌های آزمایشگاه ۸
۵-۱ راه‌اندازی و تداوم برنامه کنترل کیفی ۸
۵-۲ مسئولیت‌ها طی مراحل ارائه خدمت ۸
۶ محرمانگی اطلاعات فردی ۹
۶-۱ کلیات ۹
۶-۲ به‌کارگیری اصول محرمانگی ۱۰
۷ الزامات ایمنی آزمایشگاه ۱۱
۷-۱ کلیات ۱۱
۷-۲ الزامات ایمنی میکروبیولوژی ۱۱
۷-۳ ایمنی شیمیایی ۱۲
۷-۴ الزامات ایمنی اپتیکی ۱۴
۷-۵ طرح ایمنی ۱۴
۸ منحنی(های) کالیبراسیون ۱۴
۸-۱ کِشت ۱۴
۸-۲ منبع(های) کالیبراسیون ۱۵
۸-۳ تهیه منحنی(های) کالیبراسیون ۱۶
۸-۴ اندازه‌گیری حداقل دُز قابل‌تفکیک ۱۷
۹ شمارش شکست‌های کروموزومی ناپایدار ۱۸
۹-۱ دستورالعمل شمارش متافازهای تقسیم اول میتوزی ۱۸
۹-۲ معیارهای شمارش ۱۸
۱۰ معیارهای تبدیل فراوانی شکست‌های شمارش‌شده به تخمین دُز جذبی ۱۹

عنوان **صفحه**

۱۰-۱ کلیات ۱۹
۱۰-۲ مقایسه با نمونه‌های پرتوندیده ۱۹
۱۰-۳ آزمون توزیع شکست‌ها به ازای هر سلول ۱۹
۱۰-۴ تخمین دُز تمام بدن و حدود اطمینان ۲۰
۱۰-۵ موارد پرتوگیری حاد و غیر حاد ۲۱
۱۰-۶ موارد پرتوگیری بخشی از بدن و پرتوگیری پیشین ۲۲
۱۱ گزارش نتایج ۲۳
۱۱-۱ کلیات ۲۳
۱۱-۲ محتوای گزارش ۲۳
۱۱-۳ تفسیر نتایج ۲۴
۱۲ تضمین کیفیت و کنترل کیفی ۲۵
۱۲-۱ کلیات ۲۵
۱۲-۲ الزامات ویژه ۲۶
پیوست الف (آگاهی‌دهنده) نمونه دستورالعمل برای درخواست‌کننده ۲۹
پیوست ب (آگاهی‌دهنده) نمونه فرم پرسش‌نامه ۳۱
پیوست پ (آگاهی‌دهنده) نمونه فرم گزارش‌دهی ۳۳
پیوست ت (آگاهی‌دهنده) برازش منحنی دُز-پاسخ پرتوهای LET پایین با استفاده از روش درست‌نمایی بیشینه و محاسبه خطای تخمین دُز ۳۴
پیوست ث (آگاهی‌دهنده) روش تعیین نسبت شانس برای موارد مشکوک به پرتوگیری با دُز کم ۳۸
پیوست ج (آگاهی‌دهنده) نمونه برگه اطلاعاتی برای ثبت اطلاعات شکست‌ها ۴۰
پیوست چ (آگاهی‌دهنده) تغییرات اعمال شده دراین استاندارد ملی در مقایسه با استاندارد منبع ۴۱
کتاب‌نامه ۴۲

پیش گفتار

استاندارد «حفاظت پرتوی – معیارهای کارایی برای آزمایشگاه‌های دُزسنجی بیولوژیکی با استفاده از روش‌های سیتوژنتیک» که نخستین‌بار در سال ۱۳۸۵ بر مبنای پذیرش استانداردهای بین‌المللی به‌عنوان استاندارد ملی ایران به روش اشاره شده در مورد الف، بند ۷، استاندارد ملی شمارهٔ ۵ تدوین و منتشر شد، بر اساس پیشنهادهای دریافتی و بررسی و تأیید کمیسیون‌های مربوط برای اولین بار مورد تجدیدنظر قرار گرفت و در هفتصد و پنجاه و چهارمین اجلاسیه کمیتهٔ ملی استاندارد مهندسی پزشکی مورخ ۱۳۹۷/۰۸/۲۲ تصویب شد. اینک این استاندارد به استناد بند یک مادهٔ ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱، به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می‌شود.

استانداردهای ملی ایران بر اساس استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۵ (استانداردهای ملی ایران- ساختار و شیوهٔ نگارش) تدوین می‌شوند. برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت‌های ملی و جهانی در زمینه صنایع، علوم و خدمات، استانداردهای ملی ایران در صورت لزوم تجدیدنظر خواهد شد و هر پیشنهادی که برای اصلاح و تکمیل این استانداردها ارائه شود، هنگام تجدیدنظر در کمیسیون فنی مربوط مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین، باید همواره از آخرین تجدیدنظر استانداردهای ملی ایران استفاده کرد.

این استاندارد جایگزین استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۸۶۶۲ : سال ۱۳۸۵ می‌شود.

این استاندارد ملی بر مبنای پذیرش استاندارد بین‌المللی زیر به روش «ترجمهٔ تغییر یافته» تهیه و تدوین شده و شامل ترجمه تخصصی کامل متن آن به زبان فارسی همراه با اعمال تغییرات با توجه به مقتضیات کشور است::

ISO 19238: 2014, Radiological protection- performance criteria for service laboratories performing biological dosimetry by cytogenetics.

مقدمه

استفاده وسیع از پرتوهای یون‌ساز برای مقاصد پزشکی، صنعتی، کشاورزی، تحقیقاتی و نظامی، خطر پرتوگیری حاد پرتوکاران و عموم جامعه را افزایش داده است. در حال حاضر دُزسنجی بیولوژیکی بر مبنای مطالعه میزان شکست‌های کروموزومی و به‌ویژه سنجش دی‌سانتریک، روشی متداول در ارزیابی دُز حوادث پرتوی است. تجربه به‌کارگیری سنجش دی‌سانتریک در صدها مورد پرتوگیری حادِ تأیید شده یا مشکوک، ارزش این روش را اثبات و محدودیت‌های آن را نیز مشخص کرده است. لازم به تأکید است که بررسی سیتوژنتیکی به‌عنوان دُزسنج استفاده شده و یک ورودی برای خلاصه اطلاعات مورد نیاز برای ارزیابی سانحه پرتوی ایجاد می‌کند.

مطالعات متعدد بر روی حیوان و انسان نشان داده است که می‌توان ارتباط خوبی بین نتایج درون‌آزمایشگاهی[1] و درون‌تنی[2] برقرار کرد، بنابراین رابطهٔ دُز-پاسخ ثبت شده از نمونه‌های خون پرتودیده درون‌آزمایشگاهی را می‌توان برای منحنی‌های کالیبراسیون استفاده کرد. میزان دی‌سانتریک به کیفیت پرتو و آهنگ دُز بستگی دارد. بنابراین برای هر تحقیق، اطلاعات در مورد این متغیرها لازم است که مشخص شوند. این مشخصه‌یابی پرتوگیری برای افزایش دقت تخمین دُز اهمیت دارد. اختصاصی بودن این روش با این واقعیت مشخص می‌شود که عموماً در یک جمعیت پرتو ندیده، یک دی‌سانتریک در هر ۱۰۰۰ گستره متافازی مشاهده می‌شود که این فراوانی تقریباً غیروابسته به سن و جنس است. دقت این روش به تعداد سلول‌های مشاهده‌شده، سطح زمینه و منحنی کالیبراسیون مورداستفاده بستگی دارد. به‌طور نظری، آشکارسازی دُز ۰٫۰۱ Gy امکان‌پذیر است. اگرچه، برای آشکارسازی چنین دُزهای بسیار پایین، لازم است که ده‌ها هزار گسترهٔ متافازی بررسی شوند. در عمل، این سطح آشکارسازی نه امکان‌پذیر و نه ضروری است. حدود بالای آشکارسازی دُز در این روش، در محدوده دُزهای کُشنده برای انسان است.

هدف اولیه این استاندارد، تهیه یک راهنما برای تمام آزمایشگاه‌ها به‌منظور انجام سنجش دی‌سانتریک با استفاده از یک روش اجرایی مدون و صحه‌گذاری شده است. همچنین این استاندارد می‌تواند، مقایسه نتایج به‌دست‌آمده در آزمایشگاه‌های مختلف را به‌ویژه برای مقایسه بین آزمایشگاهی آسان کند و درنهایت آزمایشگاه‌های ارزیابی دی‌سانتریک که تازه راه‌اندازی شده‌اند به‌منظور ایجاد تجدیدپذیری و درستی نتایج خود، باید از این استاندارد تبعیت کنند.

این استاندارد، به صورت یک روش اجرایی برای دُزسنجی بیولوژیکی در موارد پرتوگیری تعداد اندکی از افراد قابل استفاده است. معیارهای مورد نیاز برای این دُزسنجی معمولاً وابسته به کاربرد نتایج آن است: مدیریت حفاظت پرتوی، مدیریت پزشکی (به تناسب)، ثبت اطلاعات و یا الزامات قانونی. در موارد خاصی نظیر پرتوگیری

1- In vitro
2- In vivo

جمعیت انبوهی از افراد و یا محدودیت امکانات آزمایشگاهی، از این روش به‌صورت اورژانس تریاژی می‌توان استفاده کرد. در این صورت، معیارهای توصیه شده برای شمارش لام به تناسب شرایط تعیین می‌شود.

اگرچه قسمتی از اطلاعات این استاندارد در راهنماهای بین‌المللی و انتشارات علمی دیگر، به‌خصوص در مجموعه گزارش‌های فنی آژانس بین‌المللی انرژی اتمی (IAEA)[1] در زمینه دُزسنجی بیولوژیکی آمده است، اما این مدرک، کنترل کیفی و تضمین کیفیت را گسترش داده و استاندارد کرده است (معیارهای اعتبارگذاری و ارزیابی کارایی). این استاندارد به طور کلی مطابق با استاندارد ISO/IEC 17025 با عنوان «الزامات عمومی برای احراز صلاحیت آزمایشگاه‌های آزمون و کالیبراسیون» با توجه به نیازهای خاص دُزسنجی بیولوژیک است. در این استاندارد، بیان عدم قطعیت‌ها در تخمین دُز، مطابق با استاندارد ISO/IEC Guide 98-1 با عنوان «ارزیابی داده‌های اندازه‌گیری برای ارائه عدم قطعیت اندازه‌گیری (GUM)[2]» و صحت (درستی و دقت) اندازه‌گیری روش‌ها و نتایج، مطابق با استاندارد ISO 5725 است.

1- International Atomic Energy Agency

2- Guide to the expression of uncertainty in measurement

راهنمای بیان عدم قطعیت در اندازه‌گیری که در آن نظریه رویکرد عدم قطعیت، به تفصیل شرح داده شده است. در این استاندارد بر رفتار ریاضی عدم قطعیت اندازه‌گیری، از طریق یک مُدل اندازه‌گیری مشخص و با فرض این‌که اندازه‌ده را می‌توان در اصل با یک تک‌مقدار مشخص کرد، تأکید دارد.

حفاظت پرتوی- معیارهای کارایی برای آزمایشگاه‌های دُزسنجی بیولوژیکی با استفاده از روش‌های سیتوژنتیک

۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد، تعیین معیارهای لازم برای تضمین کیفیت، کنترل کیفی، ارزیابی کارایی و تأیید اعتبار دُزسنجی بیولوژیکی توسط آزمایشگاه‌های سیتوژنتیک است.

این استاندارد به موارد زیر می‌پردازد:

الف- حفظ محرمانگی اطلاعات فردی درخواست‌کنندگان و آزمایشگاه؛

ب- الزامات ایمنی آزمایشگاه؛

پ- چشمه‌های کالیبراسیون و گستره‌های دُز مناسب برای تهیه منحنی‌های دُز- پاسخ مرجع که تخمین دُز را با استفاده از فراوانی شکست‌های کروموزومی و حداقل دُزهای قابل‌تفکیک، میسر می‌سازد؛

ت- روش اجرایی شمارش شکست‌های ناپایدار کروموزومی مورد استفاده در دُزسنجی بیولوژیکی؛

ث- معیارهای تبدیل فراوانی شکست‌های کروموزومی شمارش‌شده به تخمین دُز جذبی؛

ج- گزارش نتایج؛

چ- تضمین کیفیت و کنترل کیفی؛

ح- پیوست‌های آگاهی‌دهنده شامل نمونه‌هایی از دستورالعمل‌ها برای درخواست‌کننده، فرم پرسش‌نامه، فرم گزارش‌دهی، برازش منحنی دُز-پاسخ برای پرتوهای با دُز کم با استفاده از روش درست‌نمایی بیشینه[1] و محاسبه خطای تخمین دُز، روش تعیین نسبت شانس[2] برای موارد مشکوک به پرتوگیری با دُز کم و در نهایت، نمونه داده‌برگبرای ثبت اطلاعات شکست‌ها است.

یادآوری- در این استاندارد، منظور از آزمایشگاه، آزمایشگاه ارائه‌دهندهٔ خدمت و منظور از درخواست‌کننده، درخواست‌کنندهٔ خدمت از این آزمایشگاه، است.

1- Maximum Likelihood
2- Odds ratio

۲ تعاریف و اصطلاحات

در این استاندارد اصطلاحات و تعاریف زیر به‌کار می‌روند:

۲-۱

قطعه بدون سانترومر

acentric

تکه کروموزومی انتهایی یا بینابینی با اندازه‌های مختلف است، هنگامی‌که این قطعه به‌صورت مستقل از شکست‌های کروموزومی دی‌سانتریک یا حلقه‌ای سانترومردار تشکیل شده باشد، قطعه بدون سانترومر اضافی نامیده می‌شود.

۲-۲

سطح زمینه

background level

فراوانی خودبه‌خودی (یا تعداد) شکست‌های کروموزومی در نمونه‌های افراد پرتوندیده است.

۲-۳

اُریبی

bias

خطاهای آماری در نمونه‌گیری یا آزمون که در اثر ارجحیت مورد(ها) نسبت به سایر ایجاد شود.

۲-۴

حلقه سانترومردار

centric ring

شکست کروموزومی حلقه‌ای که درنتیجه اتصال دو شکست در دو بازوی مجزای یک کروموزوم رُخ می‌دهد.

یادآوری- حلقه سانترومردار معمولاً همراه با یک قطعه بدون سانترومر است.

۲-۵

سانترومر

centromere

یک ناحیه فشرده خاص بر روی کروموزوم که در طی تقسیم میتوز، جفت کروماتیدها را به هم متصل نگه می‌دارد.

۲-۶

بازهٔ اطمینان

confidence interval

یک گستره آماری از کمیت تخمین زده شده که انتظار می‌رود که مقدار کمیت، با یک احتمال خاص، در آن بازه رُخ دهد.

۲-۷

کروموزوم

chromosome

یک ساختار متشکل از بسته‌های مجزای DNA و پروتئین که حامل اطلاعات ژنتیکی بوده و در زمان تقسیم هسته با فشرده شدن، بدنه خود را با مشخصه‌های معین شکل می‌دهد.

۲-۸

کروماتید

chromatid

هر یک از دو رشته کروموزوم متصل به هم توسط یک سانترومر که طی فرآیند تقسیم سلولی از یکدیگر جدا شده تا به کروموزوم‌های مجزا تبدیل شوند.

۹-۲

دی‌سانتریک

dicentric

نوعی از شکست کروموزومی است که دارای دو سانترومر بوده و از اتصال قطعه‌های دو کروموزوم دارای شکست ایجاد می‌شود.

یادآوری- دی‌سانتریک معمولاً با یک قطعه بدون سانترومر همراه است.

۱۰-۲

دو رگ‌گیری فلورسانس درجا

FISH
fluorescence in situ hybridization

روشی که در آن از توالی‌های خاص DNA به‌عنوان کاوشگر برای قسمت‌های خاص ژنوم استفاده می‌شود و رنگ‌آمیزی نواحی کروموزومی را به کمک اتصال فلوروکروم‌های مختلف میسر می‌سازد.

۱۱-۲

اینترفاز

interphase

دوره‌ای از چرخه سلولی که بین دو تقسیم میتوز قرار دارد.

۱۲-۲

انتقال خطی انرژی

LET
linear energy transfer

LET با فرمول $\frac{dE}{dl}$ تعریف می‌شود که در آن dE، میانگین انرژی واگذارشده یک ذره باردار به‌طور موضعی هنگام عبور از مسافت dl است.

یادآوری- این تعریف مطابق با تعریف ارائه‌شده توسط کمیسیون بین‌المللی یکاها و اندازه‌گیری پرتوها (ICRU)[1] است.

1- Internatinal Commission on Radiation Unit and Meassurments

۲-۱۳

حد پایین آستانه دُز

lower threshold of dose

کم‌ترین مقدار قابل اندازه‌گیری (به‌عنوان مثال فراوانی شکست یا دُز) که در آن دو احتمال زیر در نمونه زمینه (پرتودهی‌نشده) پذیرفته می‌شوند:

- احتمال β یا عدم آشکارسازی (خطای نوع II) و
- احتمال α یا آشکارسازی مثبت کاذب (خطای نوع I) است.

۲-۱۴

متافاز

metaphase

مرحله‌ای از تقسیم میتوز که در آن غشاء هسته از بین می‌رود و کروموزوم‌ها به حداقل طول خود فشرده شده و برای تقسیم آماده می‌شوند.

۲-۱۵

حداقل دُز قابل‌تفکیک

minimum resolvable dose

پایین‌ترین میزان دُز افزوده که حد پایین بازه اطمینان ٪ ۹۵ پوآسونی آن بالاتر از صفر باشد. بنابراین ٪ ۹۷٫۵ احتمال وجود دارد که دُز دریافتی مازاد بر میزان زمینه، بزرگ‌تر از صفر باشد.

۲-۱۶

دقت

precision

واژه‌ای که میزان پراکندگی مجموعه‌ای از اندازه‌گیری‌ها را نسبت به یکدیگر توصیف می‌کند.

۲-۱۷

تضمین کیفیت

quality assurance

فعالیت‌های سیستماتیک و برنامه‌ریزی‌شده برای ایجاد اطمینان مناسب از این‌که فرآیند، اندازه‌گیری‌ها یا خدمات به‌طور رضایت‌بخشی الزامات کیفی را برآورده می‌کنند. به عنوان مثال، این موارد می‌تواند در یک مجوز مشخص شود.

۲-۱۸

کنترل کیفی

quality control

بخشی از تضمین کیفیت که قرار است انطباق سیستم‌ها و اجزاء آن با الزامات از پیش تعیین‌شده را تصدیق کند.

۲-۱۹

آزمایشگاه

service laboratory

آزمایشگاهی که اندازه‌گیری‌های دُزسنجی بیولوژیکی را انجام می‌دهد.

۳ سنجش دی‌سانتریک

تعیین فراوانی شکست‌های کروموزومی ناپایدار در مرحله متافاز در کِشت لنفوسیت‌های خون محیطی انسان، روش توصیه‌شده برای دُزسنجی بیولوژیکی است. به‌طورمعمول، شکست‌های کروموزومی از نوع دی‌سانتریک یا مجموع دی‌سانتریک و حلقه سانترومردار مورد استفاده قرار می‌گیرد. برای استفاده از این استاندارد، آزمایشگاه باید مشخص کند که کدام نوع از شکست‌های کروموزومی را برای تخمین دُز، در نظر گرفته شده است. این رویه باید در کل فرایند دُزسنجی بیولوژیکی ثابت بماند. بنابراین در این استاندارد، شکست‌های کروموزومی نوع دی‌سانتریک مدنظر بوده ولیکن در صورتی که آزمایشگاه تعیین کرده باشد، حلقه سانترومردار را نیز شامل می‌شود.

لنفوسیت‌ها با روشی کِشت می‌شوند که امکان مطالعه متافازهای اولین تقسیم سلولی میسر شود (به زیربند ۹–۱ مراجعه شود). در این روش، خون کامل و یا لنفوسیت‌های جداشده از خون، در محیط مناسب

کِشت شده تا درنهایت امکان شمارش اولین نسل سلول‌های متافازی فراهم شود. یک ماده متوقف‌کننده تقسیم سلولی به نام کُلسمید[1] یا کُلشی‌سین[2] به محیط کِشت اضافه می‌شود تا لنفوسیت‌ها در مرحله متافاز متوقف شوند. برای اطمینان از داشتن شاخص میتوزی مناسب (که اکثر سلول‌ها در متافاز اولین تقسیم سلولی باشند)، باید مدت زمان کِشت سلولی و زمان اضافه کردن ماده متوقف‌کننده بهینه شود.

آماده‌سازی متافازها از طریق سانتریفیوژ، قرار دادن در محلول نمکی هیپوتونیک و تثبیت در مخلوطی از الکل و استیک اسید انجام می‌شود. سلول‌های متافازی تثبیت‌شده بر روی لام میکروسکوپ ریخته شده و رنگ‌آمیزی می‌شوند. دستورالعمل دقیق کِشت سلول، محصول‌برداری و رنگ‌آمیزی متافازها باید توسط آزمایشگاه مستندسازی شود (به بند ۱۲ مراجعه شود).

لام‌های رنگ‌آمیزی شده برای یافتن متافازهای تقسیم اول سلولی به‌طور قاعده‌مند جستجو شده و شکست‌های دی‌سانتریک، مورد شمارش قرار می‌گیرند (به زیربند ۹–۲ مراجعه شود). فراوانی دی‌سانتریک‌های مشاهده‌شده در تعداد مناسبی از متافازهای تقسیم اول سلولی، شمارش‌شده و با مراجعه به داده‌های منحنی کالیبراسیون، به تخمین دُز منجر می‌شود (به بند ۱۰ مراجعه شود).

۴ مسئولیت‌های درخواست‌کننده

این بند شامل موارد خارج از کنترل آزمایشگاه است. قبل از نمونه‌گیری خون، باید هماهنگی لازم بین درخواست‌کننده و آزمایشگاه انجام شود. الزامات اساسی باید برای درخواست‌کننده شرح داده شود که این می‌تواند به‌صورت یک برگه دستورالعمل استاندارد باشد (همان‌طور که در پیوست **الف** شرح داده شده است). نکات ضروری این الزامات، شامل موارد زیر است:

الف- خون‌گیری باید با استفاده از لوله‌های نمونه‌گیری که توسط آزمایشگاه ارسال و یا مشخص شده است، انجام شود. این لوله‌ها حاوی مادهٔ ضد انعقاد هپارین لیتیم هستند.

ب- پس از خون‌گیری (به‌طور ایده‌آل، حدود ۱۰ میلی‌لیتر)، باید مشخصات لازم به‌صورت دقیق و بدون ابهام بر روی آن ذکرشده، در دمای اتاق (حدود ۲۰ درجه سانتی‌گراد) نگهداری و در اسرع وقت به آزمایشگاه ارسال شود.

پ- مراقبت‌های لازم جهت حصول اطمینان از سالم بودن لوله خون‌گیری و ممانعت از نشت آن طی انتقال، باید در نظر گرفته شود. نمونه‌های خون طی انتقال باید در دمای بین ۶ درجه سانتی‌گراد تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شوند. مدارک تحت کنترل بودن دما طی انتقال باید مستندسازی شوند. بسته‌بندی و برچسب‌زنی باید با ضوابط و مقررات ملی و بین‌المللی، مطابقت داشته باشد. در صورت حمل هوایی نمونه، یک دُزسنج فیزیکی نیز باید به همراه نمونه ارسال شود تا پرتوگیری نمونه در مدت انتقال مدنظر قرار گیرد.

1- Colcemid
2- Colchicine

ت- پرسشنامه آزمایشگاه باید توسط درخواست‌کننده تکمیل شده و در اسرع وقت به آزمایشگاه بازگردانده شود.

ث- آلودگی بیولوژیکی نمونه‌ها باید به آزمایشگاه اطلاع‌رسانی شود.

۵ مسئولیت‌های آزمایشگاه

۵-۱ راه‌اندازی و تداوم برنامه کنترل کیفی

آزمایشگاه باید برنامه کنترل کیفی را استقرار داده و به‌طور مرتب نگهداری کند (به بند ۱۲ مراجعه شود) که این برنامه باید کلیه جنبه‌های ارائه خدمات را شامل شود. برنامه کنترل کیفی باید شامل موارد زیر باشد:

الف- کنترل کیفی داخلی، که شامل بررسی دوره‌ای عملکرد دستگاه‌ها، کیفیت محلول‌ها و بررسی کارایی‌های مختلف (مقایسه‌های درون آزمایشگاهی، مهارت‌های کارکنان، دستورالعمل کار با نمونه‌ها، مطالعه لام‌ها، تخمین دُز، تهیه گزارش و غیره) است.

ب- کنترل کیفی خارجی، که شامل بررسی دوره‌ای کلیه فعالیت‌های آزمایشگاه و ممیزی خارجی ازجمله بازدید مدارک عملکرد دستگاه‌ها، کیفیت محلول‌ها و بررسی کارایی‌های مختلف (مقایسه‌های بین آزمایشگاهی، مهارت‌های کارکنان، نقل و انتقال نمونه و غیره) است.

۵-۲ مسئولیت‌ها طی مراحل ارائه خدمت

آزمایشگاه باید راهنماهای ضروری، روش‌های اجرایی و گزارش‌های لازم برای ارزیابی سیتوژنتیکی و پاسخ به تقاضای درخواست‌کننده را تهیه کند. این فعالیت‌ها شامل موارد زیر است:

الف- آزمایشگاه باید یک گزارش بازبینی و تأییدشده توسط مسئول فنی (رادیوبیولوژیست آزمایشگاه یا معادل آن) شامل موارد زیر را تهیه کند:

- برگه آموزشی دستورالعمل ارسال نمونه (به پیوست **الف** مراجعه شود)؛
- اطلاعات زیر باید از پرسش‌نامه قابل استخراج باشد: رضایت بیمار، اطلاعات پرتوگیری تمام یا بخشی از بدن، چشمه و کیفیت پرتو، شرایط پرتوگیری، محل پرتوگیری (کشور، شهر، شرکت و غیره)، تاریخ و زمان پرتوگیری، پرتوگیری‌های شغلی و پزشکی قبلی، داروهای مصرف‌شده، عفونت، استعمال دخانیات و در معرض قرارگیری قابل‌توجه با هرگونه ماده آسیب‌رسان به DNA (مانند حلال‌های آلی یا فلزهای سنگین) (به پیوست **ب** مراجعه شود)؛
- روش اجرایی گام‌به‌گام فرآیند انجام‌شده بر روی نمونه‌های خون از مرحله خون‌گیری تا گزارش تخمین دُز.

ب- در صورت لزوم، ارسال لوازم خون‌گیری برای آزمایشگاه، از لوله‌های (۱۰ میلی‌لیتری) حاوی مادهٔ ضد انعقاد هپارین لیتیم استفاده شود. در صورت نیاز می‌توان بسته برچسب‌دار مناسب برای بازگشت نمونه‌ها به

آزمایشگاه را نیز ارسال کرد. ویژگی‌ها، مشخصات و شرایط بسته‌بندی باید مطابق با ضوابط و مقررات ملی (یا بین‌المللی) و مخصوص انتقال نمونه‌های پاتولوژی بالقوه عفونی باشد (به زیربند ۱۲-۲-۴ مراجعه شود).

پ- پس از دریافت نمونه خون، مراحل زیر باید انجام شود:

- دریافت نمونه خون را مستندسازی کنید (تاریخ، زمان و فرد تحویل‌گیرنده).
- نمونه خون را کُدگذاری کنید.
- محل نگهداری نمونه تا زمان کِشت را مستندسازی کنید.
- هر چه سریع‌تر نمونه‌ها را به‌طور هم‌زمان کِشت دهید و تاریخ، زمان و فرد کِشت‌دهنده را مستندسازی کنید.
- شماره بسته کلیه محلول‌های مورد استفاده برای کِشت را مستندسازی کنید.
- زمان اضافه کردن محلول‌ها و خاتمه کِشت (تاریخ، زمان، فرد کِشت‌دهنده) را مستندسازی کنید.
- ذخیره‌سازی کوتاه‌مدت و بلندمدت نمونه را پیش از تهیه لام‌ها، مستندسازی کنید.
- کُد، تعداد و محل ذخیره‌سازی لام‌ها را مستندسازی کنید.
- نتایج شمارش شکست‌ها را مستندسازی کنید.
- لام‌ها و مدارک ثبت‌شده را به‌منظور احتمال نیاز به ارزیابی مجدد نمونه ازنظر پزشکی قانونی، مستندسازی و در یک مکان مناسب برای مدت حداقل ۳۰ سال، نگهداری کنید.

ت- آزمایشگاه باید تفسیر نتایج را انجام داده و گزارش تهیه کند (به پیوست **ج** مراجعه شود).

ث- آزمایشگاه باید تعامل خود با درخواست‌کننده را ادامه دهد و برطبق نظر درخواست‌کننده اولویت‌بندی نمونه‌ها را برای گزارش‌دهی لحاظ کند.

۶ محرمانگی اطلاعات فردی

۶-۱ کلیات

بررسی‌های دُزسنجی بیولوژیکی که توسط آزمایشگاه انجام می‌شود باید مطابق با مقررات ملی مربوط به محرمانگی انجام پذیرد. این امر به‌طورمعمول شامل حفظ محرمانگی مشخصات بیماران، اطلاعات پزشکی و وضعیت اجتماعی آن‌ها است. علاوه بر آن، نام شرکت محل استخدام فرد و سایر سازمان‌های درگیر در حادثه/سانحه پرتوی باید محرمانه تلقی شوند. این الزامات شامل موارد زیر نیز می‌شود:

الف- کلیه مکاتبات دستی، الکترونیکی و یا مکالمات شفاهی بین آزمایشگاه و فرد/یا سازمان درخواست‌کننده آزمایش و دریافت‌کننده گزارش نتایج.

ب- حفاظت از اطلاعات محرمانه در داخل سازمانی که آزمایشگاه در آن قرار دارد.

۶-۲ به‌کارگیری اصول محرمانگی

۶-۲-۱ تفویض مسئولیت‌ها در آزمایشگاه

مسئول فنی آزمایشگاه ممکن است به تعداد محدودی از کارکنان آزمایشگاه اجازه دسترسی به اسناد مربوط به آزمایش‌ها را بدهد. کارکنان دارای مجوز، باید در رابطه با حفظ اصول محرمانگی در انجام وظایف خود در آزمایشگاه، «تعهدنامه رعایت محرمانگی» را امضاء کنند.

مسئول فنی آزمایشگاه باید تعهدنامه‌های امضاءشده مربوط به حفظ اصول محرمانگی را نگهداری کرده و از حفاظت و ایمن بودن کلیه اسناد محرمانه اطمینان حاصل کند.

۶-۲-۲ درخواست برای انجام آزمایش

درخواست انجام آزمایش باید به‌طورمعمول به‌وسیله پزشک معالج بیمار، گروه اورژانس پرتوی، خود بیمار، درخواست مراجع قانونی و یا بر اساس دعاوی حقوقی ارائه شود. در تمامی موارد، خون‌گیری برای کِشت کروموزومی باید با رضایتِ آگاهانه بیمار انجام شود. مسئول فنی آزمایشگاه لازم است فرم رضایت‌نامه بیمار را ثبت و نگهداری کند.

۶-۲-۳ انتقال اطلاعات محرمانه

صرف‌نظر از نوع روش ارتباطی انتخاب‌شده، محرمانگی اطلاعات باید در طی تبادل اطلاعات و گزارش‌ها بین آزمایشگاه و درخواست‌کننده آزمایش تضمین شود.

مسئول فنی آزمایشگاه باید کلیه فرآیندهای انتقال اطلاعات را تعیین و از حفظ محرمانگی آن‌ها اطمینان حاصل کند.

۶-۲-۴ بی‌نام بودن نمونه‌ها

مسئول فنی آزمایشگاه باید قاعده مشخصی را برای بی‌نام باقی ماندن نمونه‌ها مقرر کند. برای اجتناب از شناسایی بیمار و درعین‌حال تضمین قابلیت ردیابی، باید نمونه‌های خون در هنگام ورود به آزمایشگاه، کُدگذاری شوند. کُدگذاری باید واضح و بر اساس یک روش اجرایی مشخص باشد. برای هر نمونه باید تنها از یک کُد برای تمام مراحل آزمایش استفاده شود. کدها به‌وسیله کارکنان مجاز تعیین‌شده (به تعریف ارائه‌شده در زیربند ۶-۲-۱ مراجعه شود)، و رمزگشایی کُدها، تفسیر نتایج و تهیه گزارش نیز باید به‌وسیله کارکنان مجاز و زیر نظر مسئول فنی آزمایشگاه انجام شود.

۶-۲-۵ گزارش‌دهی نتایج

گزارش نهایی نتایج (و در صورت نیاز تفسیر آن‌ها) بنا به تقاضای درخواست‌کننده، ارائه می‌شود. برحسب مورد، رونوشت‌های گزارش به مراجع قانونی و ذی‌صلاح کشور نیز قابل ارائه است.

۶-۲-۶ نگهداری اطلاعات

مسئول فنی آزمایشگاه باید چگونگی نگهداری اطلاعات و نتایج را مشخص کند. تمامی مدارک آزمایشگاه که مربوط به نمونه‌ها بوده و امکان شناسایی بیمار و یا درخواست‌کننده را می‌دهد، باید در محلی که تنها برای افراد مجاز قابل‌دسترس است، نگهداری شود. مدارک جهت ارزیابی مجدد پزشکی- قانونی باید در مکانی مناسب و حداقل به مدت ۳۰ سال نگهداری شوند. امحاء نهایی مدارک باید با روش‌های ایمن مثل خُرد کردن انجام شود.

۷ الزامات ایمنی آزمایشگاه

۷-۱ کلیات

کارکنان باید بر اساس قوانین ملی و مقررات آزمایشگاهی در رابطه با ایمنی فعالیت کنند. در این رابطه موارد مهمی از قبیل ملاحظات میکروبیولوژی، شیمیایی و اپتیکی وجود دارد که باید توسط آزمایشگاه رعایت شوند.

۷-۲ الزامات ایمنی میکروبیولوژی

کار با نمونه‌های خون، با خطر انتقال انگل و عفونت به کارکنان آزمایشگاه همراه است. حتی اگر نمونه‌ها از افراد به‌ظاهر سالم گرفته شده باشد، باید آن‌ها را بالقوه عفونت‌زا تلقی کرد. نمونه‌ها باید در زیر هودهای کلاس ۲ باز شده و با آن‌ها کار شود. مزیت دیگر این نوع هود، کاهش احتمال خراب شدن کِشت‌ها به دلیل آلودگی میکروبی است. به‌منظور کاهش خطر جراحت، باید استفاده از وسایل تیز مثل سرسوزن‌ها، به حداقل رسانده شود. در صورت پخش شدن مواد بالقوه عفونی، باید مواد ضدعفونی‌کننده مناسب در دسترس باشد. تمامی پسماندهای بیولوژیک و مواد پلاستیکی یک‌بارمصرف باید قبل از دور انداختن نهایی، از طریق اتوکلاو کردن یا سوزاندن، استریل شوند.

کارکنان باید در مقابل خطر بیماری‌های ناشی از خون آلوده واکسینه شوند. برای نمونه‌های خون وارد شده از خارج کشور و برای ترخیص از گمرک، ارائه تأییدیه منفی بودن آزمایش HIV از کشور فرستنده و تأییدیه صادره از سوی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی کشور، الزامی است. ذکر این نکته نیز ضروری است که در مورد نمونه‌های خون ارسالی از برخی از کشورهای مبدأ ممکن است خطوط هوایی حمل‌کننده، فرستندهٔ نمونه خون را به ارائه تأییدیه منفی بودن آزمایش HIV نمونه ملزم کنند.

۳-۷ ایمنی شیمیایی

به مواد شیمیایی و دارویی که به‌طورمعمول در این استاندارد از آن‌ها استفاده می‌شوند، در زیر اشاره شده است. معمولاً در کِشت و یا رنگ‌آمیزی، این مواد شیمیایی و دارویی در حجم‌های کم و رقیق‌شده استفاده می‌شوند که عموماً خطری برای سلامتی ندارند. هرچند این مواد شیمیایی و دارویی معمولاً در غلظت‌های بالا تهیه و نگهداری می‌شوند. در جدول ۱، فهرست محلول‌های اصلی و خطرات پذیرفته‌شده آن‌ها (حالت H) برمبنای «سیستم جهانی طبقه‌بندی و برچسب‌گذاری مواد شیمیایی» (GHS)[1] ارائه شده است:

1- Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals

جدول ۱- فهرست مواد شیمیایی و دارویی مورد استفاده در این استاندارد

نام ماده	مشخصه
استیک اسید	H226, H290, H314
بنزیل پنی سیلین	H317, H334
بروموداکسی یوریدین	H351
کُلسمید	H300, H361
سیتوکالازین ب	H300, H310, H330, H361
رنگ گیمسا	H225, H301, H311, H331, H370
هپارین	H315, H319, H334
رنگ هوخست	H302, H315, H319
متانول	H225, H301, H311, H331, H370
فیتوهما گلوتینین	H302, H317, H332
استر پتومایسین سولفات	H302, H332, H317, H334, H361

راهنمای جدول:

مایع و بخارات آن بسیار قابل اشتعال است	H225
مایع و بخارات آن قابل اشتعال است	H226
ممکن است برای فلزات خورنده باشد	H290
بلع آن کشنده است	H300
بلع آن سمی است	H301
بلع آن مضر است	H302
تماس آن با پوست کشنده است	H310
تماس آن با پوست سمی است	H311
باعث سوختگی‌های شدید پوستی و صدمات چشمی می‌شود	H314
باعث تحریک پوست می‌شود	H315
ممکن است باعث واکنش‌های آلرژیک پوستی شود	H317
باعث تحریک شدید چشم می‌شود	H319
استنشاق آن کشنده است	H330
استنشاق آن سمی است	H331
استنشاق آن مضر است	H332
استنشاق آن ممکن است باعث آلرژی یا علائم آسم و یا مشکلات تنفسی شود	H334
مشکوک به ایجاد سرطان است	H351
مشکوک به ایجاد صدمات باروری یا جنینی است	H361
باعث ایجاد صدمه به اعضای بدن می‌شود	H370

۴-۷ الزامات ایمنی اپتیکی

هنگامی‌که از لامپ‌های فرابنفش برای استریل کردن داخل هودهای میکروبیولوژیک و یا پرتودهی لام‌ها در مراحل رنگ‌آمیزی گیمسا به‌علاوه فلورسانس (FPG)[1] استفاده می‌شود، باید دستورالعمل‌های کاری و حفاظ‌گذاری برای جلوگیری از پرتودهی مستقیم فرابنفش به پوست و چشم کارکنان آزمایشگاه مدنظر قرار گیرد.

۵-۷ طرح ایمنی

مسئول فنی آزمایشگاه باید دستورالعمل‌های ایمنی برای حفاظت کارکنان در برابر مخاطرات میکروبیولوژی، شیمیایی و اپتیکی را تهیه کند.
همچنین مسئول فنی آزمایشگاه باید حوادث را ثبت کرده و دستورالعمل‌ها و اقدامات لازم برای اجتناب از تکرار حوادث مشابه را ثبت و نگهداری کند.

۸ منحنی(های) کالیبراسیون

۱-۸ کِشت

برای بررسی شکست‌ها در موارد مشکوک به پرتوگیری بیش از حد، شرایط کِشت باید همان شرایط مورد استفاده در تهیه منحنی کالیبراسیون باشد.
هر آزمایشگاه باید روش دقیقی را برای سنجش دی‌سانتریک راه‌اندازی کند. موارد ضروری شامل فهرست زیر است:

الف- خون باید بلافاصله پس از پرتودهی، حداقل ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس کِشت داده شود.

ب- کِشت سلول‌ها باید در دمای (۰٫۵ ± ۳۷) سانتی‌گراد و به‌صورت خون کامل، سوسپانسیون لنفوسیتی غنی‌شده (زیر پلاسما)[2] و یا لنفوسیت‌های جداشده انجام شود.

پ- لوله‌های کِشت باید استریل بوده و به طریقی مورد استفاده قرار گیرد که از آلودگی میکروبی جلوگیری شود.

ت- باید از محیط‌های کِشت اختصاصی که امکان تکثیر لنفوسیت‌های خون محیطی را می‌دهند، استفاده کرد. معمولاً این محیط با سِرُم جنین گاوی (FBS)[3] (بین ٪ ۱۰ و ٪ ۲۰)، ۲۰۰ میلی‌مولار ال-گلوتامین و پنی‌سیلین/استرپتومایسین ($100\ IU{\cdot}ml^{-1}$/$100\ \mu g{\cdot}ml^{-1}$) کامل می‌شود (به منبع [۸] کتاب‌نامه مراجعه شود).

1- Fluorescence Plus Giemsa
2- Buffy coat
3- Foetal Bovine Serum

ث- عامل میتوژن (مثل فیتوهماگلوتینین) باید به محیط اضافه شود تا لنفوسیت‌ها را برای ورود به میتوز تحریک کند.

ج- برای اطمینان از شمارش متافازهای تقسیم اول میتوزی باید از یک روش مطمئن استفاده کرد (به زیربند ۹-۱ مراجعه شود).

چ- برای توقف سلول‌ها در میتوز، در زمان و غلظت تعیین‌شده توسط آزمایشگاه، باید کُلسمید یا کلشی‌سین را به محیط کِشت اضافه کرد.

ح- برای به حداکثر رساندن تعداد متافازهای تقسیم اول میتوزی، زمان محصول‌برداری بسیار مهم است و باید مطابق با شرایط استاندارد کِشت در آزمایشگاه انجام شود. مدت‌زمان توصیه‌شده کِشت ۴۸ ساعت است، ولیکن در شرایط خاصی که رخداد تأخیر میتوزی مورد انتظار است، به زمان کِشت طولانی‌تری نیاز دارد.

خ- برای جداسازی سلول‌ها از محیط کِشت، سانتریفیوژ انجام می‌شود. سپس سلول‌ها را باید با یک محلول هیپوتونیک نظیر KCl با غلظت ۰٫۰۷۵ مولار به مدت ۱۰ دقیقه تا ۱۵ دقیقه تیمار کرد تا قبل از تثبیت، سلول‌ها متورم شوند.

د- پس از سانتریفیوژ کردن، باید محلول رویی را خارج کرده و سلول‌ها را در محلول تازه تهیه‌شده متانول-استیک اسید (به نسبت ۳ به ۱) تثبیت کرد و سلول‌ها را سه یا چهار بار با این محلول شستشو داد تا سوسپانسیون سلولی شفاف شود.

ذ- در صورت نیاز به ذخیره‌سازی سلول‌های تثبیت‌شده، سوسپانسیون سلولی را باید در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری کرد.

ر- آماده‌سازی لام‌ها باید به‌گونه‌ای باشد که شکست‌های کروموزومی را به‌وضوح بتوان تشخیص داد. برای افزایش کیفیت گستره‌های متافازی، رطوبت و دما را می‌توان تنظیم کرد.

ز- قبل از رنگ‌آمیزی، لام‌ها را حداقل به مدت یک ساعت خشک کرد. لام‌ها باید با گیمسا رنگ‌آمیزی شوند. در صورت استفاده از روش FPG برای شناسایی متافازهای تقسیم اول میتوزی، باید رنگ‌آمیزی با هوخست[1] ۳۳۲۵۸ انجام شود و سپس لام‌ها در معرض پرتو فرابنفش قرار گیرند.

ژ- برای جلوگیری از محوشدگی، لام‌های رنگ‌شده را باید در تاریکی و در دمای اتاق ذخیره کرد. برای نگهداری بهتر، باید لامل روی لام‌ها چسبانده شود.

1- Hoechst

۸-۲ منبع(های) کالیبراسیون

آزمایشگاه باید گزارشی تهیه کند که توسط یک کارشناس باصلاحیت (متخصص فیزیک پرتوی و یا مسئول فنی آزمایشگاه) بازبینی و تأیید و در آن به موارد زیر اشاره شده باشد:

الف- شرح کامل مشخصات منابع مولد پرتو (برای مثال مدل دستگاه، لایهٔ نیمه‌کننده (HVL)[1]، کیلوولت بیشینه و شدت‌جریان و در نهایت فاصله منبع تا نمونه پرتودهی‌شده (SSD)[2]) که برای تهیه منحنی‌های کالیبراسیون درون‌آزمایشگاهی استفاده شده است.

ب- مشخصات منابع کالیبراسیون مولد پرتو مورد استفاده برای تهیه هر منحنی کالیبراسیون درون‌آزمایشگاهی باید مطابق با استانداردهای ملی/ بین‌المللی باشد.

پ- تشریح روش دُزسنجی، دستورالعمل تأیید استاندارد بودن روش دُزسنجی، روش مورد استفاده برای اندازه‌گیری یکنواختی دُز و درنهایت دستورالعمل مستندی که دُز و آهنگ دُز[3] را برای هر یک از آزمایش‌ها تصدیق کند.

ت- گزارش مختصر دُزسنجی برای هر منحنی کالیبراسیون تهیه شود.

۸-۳ تهیه منحنی(های) کالیبراسیون

در هر یک از موارد پرتوهای فوتونی با LET بالا و پایین، حداقل هفت دُز باید انتخاب شوند که به‌طور مساوی بین اجزای خطی و درجه دوم منحنی توزیع شده باشند. برای منحنی کالیبراسیون، محدوده دُز به‌طورمعمول از ۰٫۱ گری تا ۴ گری انتخاب می‌شود.

فراوانی دی‌سانتریک‌های مشاهده‌شده (Y) باید مطابق با مدل‌های خطی یا خطی-درجه دوم باشد (طبق فرمول ۱). برای اغلب پرتوهای با LET بالا، مدل خطی مناسب‌تر است.

$$Y = C(SE_C) + \alpha D_T\,(\pm SE_\alpha) + \beta {D_T}^2 (\pm SE_\beta) \qquad (۱)$$

که در آن:

D_T دُز؛

α، β، C ضرایب برازش مُدل خطی-درجه دوم؛

SE خطای استاندارد ضرایب است.

دو روش «کمترین مربعات بازموزون تکراری»[4] و «درست‌نمایی بیشینه»[5] برای برازش منحنی پیشنهاد شده است (به پیوست **ت** مراجعه شود). برای داده‌های بیش‌پراکنده غیر-پوآسون (یعنی برای انواع پرتوهای با LET

1- Half Value Layer
2- Source-to-surface distance
3- Dose Rate
4- Iteratively reweighted least squares
5- Maximum likelihood

بالا)، وزن‌ها باید بیش‌پراکندگی را در نظر گیرند. اگر عدد حاصل از مربع کای[1] بیشتر از درجات آزادی باشد، خطاهای استاندارد باید با استفاده از رابطه زیر افزایش یابد.

$$\left(\text{مربع کای} \Big/ \text{درجه آزادی}\right)^{1/2}$$

آزمایشگاه باید گزارشی تهیه کند که توسط مسئول فنی آزمایشگاه (متخصص رادیوبیولوژی یا هم‌تراز آن) بازبینی و تأیید و در آن به موارد زیر اشاره شده باشد:

الف- شرح روش پرتودهی (نگهدارنده نمونه، کنترل دما و غیره) و دستورالعملی که تکرارپذیری این روش را برای هر یک از آزمایش‌ها تصدیق کند.

ب- جزئیات داده‌های کالیبراسیون درون‌آزمایشگاهی و برازش آن با منحنی کالیبراسیون شرح داده شود. نیکویی برازش[2] و معنی‌دار بودن ضرایب خطی و خطی- درجه دو برازش‌شده باید بیان شوند.

آزمایشگاه باید به‌منظور برازش منحنی، از نرم‌افزاری معتبر استفاده کند. کمیته بین‌المللی دُزسنجی بیولوژیکی، نمونه‌هایی از چنین نرم‌افزارهایی را توسعه و به‌صورت رایگان در دسترس قرار داده است. در این رابطه، ممکن است بتوان نرم‌افزارهای دیگری را از طریق اینترنت و یا مقالات یافت. صرف‌نظر از نوع نرم‌افزار، باید صحه‌گذاری داده‌ها، شامل مقایسه داده‌های نرم‌افزار با داده‌های انتشار یافته، انجام شود.

۸-۴ اندازه‌گیری حداقل دُز قابل‌تفکیک

حداقل دُز قابل‌تفکیک، تابعی از سطح زمینه دی‌سانتریک آن آزمایشگاه، ضرایب منحنی کالیبراسیون و تعداد سلول‌های شمارش‌شده است و به کمترین دُز به‌کار رفته در منحنی کالیبراسیون محدود می‌شود. یک آزمایشگاه اعتباردهی‌شده باید در تهیه گزارش به حداقل دُز قابل‌تفکیک اشاره کند؛ این حد تخمین باید به اطلاع پزشک برسد. حداقل دُز قابل‌تفکیک حدود ۱۰۰ میلی‌گری پیشنهاد شده است.

اگر دُز پرتوی مورد انتظار پایین باشد، محاسبه نسبت شانس باید به گزارش افزوده شود (به پیوست **ج** مراجعه شود).

1- Chi-square
2- Goodness of fit

۹ شمارش شکست‌های کروموزومی ناپایدار

۹-۱ دستورالعمل شمارش متافازهای تقسیم اول میتوزی

یکی از جنبه‌های مهم کشت نمونه‌های خون برای تخمین دُز به‌وسیله سنجش شکست‌های کروموزومی دی‌سانتریک (و حلقه)، زمان محصول‌برداری متافازها است. بیشترین فراوانی شکست‌های کروموزومی ناپایدار در اولین نسل متافازی لنفوسیت‌های افراد پرتودیده پس از پرتوگیری مشاهده می‌شود. روش استاندارد برای حصول اطمینان از آن‌که فقط متافازهای اولین نسل حاصل از تقسیم سلولی شمارش می‌شوند، بر اساس استفاده از روش رنگ‌آمیزی FPG خواهد بود که لازم است ماده برومو دئوکسی یوریدین (BrdU) به محیط کِشت اضافه شود. یکی از روش‌های اجرایی قابل قبول، بررسی لام دیگری از همان کِشت رنگ‌آمیزی‌شده با روش FPG است. چنانچه فراوانی متافازهای تقسیم دوم یا بعدی پایین باشد (کمتر از ٪ ۵)، می‌توان لام‌ها را فقط با گیمسا، رنگ‌آمیزی و شمارش کرد. در کِشت‌های حاوی بیش از ٪ ۵ متافازهای تقسیم دوم، باید لام‌های رنگ‌آمیزی‌شده با FPG شمارش شوند. استفاده از سایر روش‌های مستند و معتبر نیز قابل قبول خواهند بود. برای نگهداری بلندمدت لام‌ها، لامل‌گذاری توصیه می‌شود.

۹-۲ معیارهای شمارش

۹-۲-۱ کُدگذاری نمونه‌ها و لام‌ها

کلیه نمونه‌ها، لام‌ها و نمونه استانداردهای صحه‌گذاری‌شده[1] درون و بین آزمایشگاهی باید کُدگذاری و نگهداری شوند.

۹-۲-۲ روش‌های شمارش

مسئول فنی آزمایشگاه باید دستورالعمل‌های مورد استفاده برای شمارش را تهیه و اجرا کند. در صورت شمارش با کمک متافازیاب کامپیوتری و/یا پردازش تصویر، کیفیت سیستم مورداستفاده باید قبلاً با نتایج مستند، تضمین شده باشد.

برای اطمینان از بررسی کامل و نیز عدم شمارش تکراری متافازها، جستجوی قاعده‌مند لام‌ها بسیار ضروری است. توصیه می‌شود بیش از یک لام برای هر نمونه مورد شمارش قرار گیرد.

با این‌که همواره برای تخمین دُز، دی‌سانتریک‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند، آزمایشگاه به‌عنوان یک روش استاندارد، کلیه شکست‌های کروموزومی را ثبت می‌کنند. برای ثبت داده‌هایی نظیر شکست‌های شمارش‌شده در هر سلول، باید از یک فرم استاندارد استفاده شود (به پیوست **ج** مراجعه شود). هنگامی‌که بیش از یک نفر بررسی و شمارش کروموزوم‌ها را انجام می‌دهد، هرکدام باید تعداد قابل مقایسه‌ای از متافازها را بررسی کند.

1- Validation Standards

۹-۲-۳ تخصص لازم برای شمارش لام‌ها

متافازها باید توسط اشخاص باتجربه و آموزش‌دیده که آشنایی کامل با شمارش شکست‌های کروموزومی ناپایدار مورد استفاده در دُزسنجی بیولوژیکی را دارند، بررسی و مطالعه شود. مستندات صحت تخصص این افراد باید نگهداری شود.

مسئول فنی آزمایشگاه، مسئول حفظ معیارهای شمارش و احراز صلاحیت افراد شمارش‌کننده لام است. کلیه شمارش‌کنندگان باید در مقایسه‌های درون و بین آزمایشگاهی شرکت کنند. فردی که برای شمارش لام دارای صلاحیت کافی است که نتایج شمارش وی با سطح اطمینان ٪ ۹۵ پوآسونی با نتایج شمارش مورد انتظار از منحنی کالیبراسیون آزمایشگاه مطابقت داشته باشد.

در ادامه به جزئیات بیشتری از بررسی کارایی افراد شمارش‌کننده با مطالعات مقایسه بین آزمایشگاهی (مطابق با زیربند ۱۲-۲-۲) و بررسی دوره‌ای هر یک از شمارش‌کنندگان (مطابق با زیربند ۱۲-۲-۳) اشاره خواهد شد.

۱۰ معیارهای تبدیل فراوانی شکست‌های شمارش‌شده به تخمین دُز جذبی

۱۰-۱ کلیات

فراوانی دی‌سانتریک‌های شمارش‌شده با رجوع به یک منحنی کالیبراسیون درون‌آزمایشگاهی مناسب که در همان آزمایشگاه و با پرتوهایی با همان کیفیت تهیه شده است، قابل تبدیل به دُز جذبی است. با این روش می‌توان دُز متوسط تمام بدن را به‌دست آورد. برای موارد عادی، حداقل ۵۰۰ سلول برای هر نمونه باید شمارش شود، مگر آن‌که فراوانی شکست‌ها خیلی بالا باشد که در این حالت مطالعه ۱۰۰ دی‌سانتریک کفایت می‌کند. در موارد خاص که فراوانی دی‌سانتریک‌ها زیاد باشد ولیکن تعداد گستره‌های متافازی نمونه کم باشد، گزارش دُز با شمارش کمتر از ۱۰۰ دی‌سانتریک نیز ممکن خواهد بود.

۱۰-۲ مقایسه با نمونه‌های پرتوندیده

آزمایشگاه باید میزان دی‌سانتریک زمینه را در گزارش‌های تخمین دُز ذکر کند (یک مثال در پیوست **پ** ارائه شده است). اگر میزان شکست شمارش‌شده به‌طور معنی‌داری با فراوانی نمونه‌های پرتوندیده متفاوت نباشد، بهترین تخمین دُز برای فرد، بین صفر تا حد بالای اطمینان است (حد پایین، عدد صفر است). اگر میزان شکست شمارش‌شده به‌طور معنی‌داری بالاتر از سطح کنترل باشد، تخمین دُز با عدم قطعیت آن محاسبه و گزارش می‌شود.

۱۰-۳ آزمون توزیع شکست‌ها به ازای هر سلول

توزیع دی‌سانتریک‌های ایجادشده در اثر پرتودهی همگن لنفوسیت‌های انسانی در فاز استراحت سلولی (G_0) با پرتوهای LET پایین، از توزیع پوآسونی تبعیت می‌کند. در موارد پرتودهی به‌صورت ناهمگن یا پرتوهای LET

بالا، توزیع سلولی دی‌سانتریک‌ها به سمت بیش‌پراکندگی[1] تمایل می‌یابد (واریانس بزرگ‌تر از میانگین است). از آنجایی‌که روش‌های برازش منحنی دُز-پاسخ بر مبنای توزیع پوآسونی است، برای رسم این منحنی باید عدم بیش‌پراکندگی دی‌سانتریک‌ها در تمامی دُزهای مورداستفاده، آزموده شود. این بررسی باید با استفاده از آزمون u که واحد بهنجارسازی شاخص پراکندگی $D=\sigma^2/y$ (واریانس تقسیم بر میانگین) است، انجام شود. برای توزیع پوآسون، مقدار D باید واحد باشد و مقادیر u بیشتر از ۱٫۹۶ نشان‌دهنده بیش‌پراکندگی است (سطح معنی‌دار α=۰٫۲۵).

$$u = (D-1) \times \sqrt{\frac{N-1}{\left[2 \times \left(1-\frac{1}{X}\right)\right]}} \qquad (۲)$$

که در آن:

D شاخص پراکندگی

N تعداد سلول‌های مورد بررسی

X تعداد دی‌سانتریک‌های مشاهده‌شده است.

۴-۱۰ تخمین دُز تمام بدن و حدود اطمینان

۱-۴-۱۰ کلیات

آزمایشگاه باید در گزارش نتیجه خود، دُز تمام بدن را تخمین زده و حدود اطمینان آن را نیز بیان کند. عدم قطعیت‌ها معمولاً به‌صورت حدود اطمینان ٪ ۹۵ بیان می‌شود، اگرچه درصدهای دیگری نیز ممکن است برای قضاوت در یک مورد خاص اعلام شوند. اگر حد پایین اطمینان، کمتر از صفر باشد، لازم است فقط حد بالای اطمینان اعلام شود.

۲-۴-۱۰ حدود اطمینان میزان دی‌سانتریک‌ها

روش‌های متعددی برای محاسبه حدود اطمینان میزان دی‌سانتریک‌های شمارش‌شده وجود دارد. حدود اطمینان مشاهدات پوآسونی، از جدول استاندارد به دست می‌آید. با در نظر گرفتن توزیع پوآسونی، اگر شکست اندازه‌گیری‌شده دارای بیش‌پراکندگی باشد، عدم اطمینان آن باید با مجذور نسبت واریانس به میانه افزایش یابد. (به زیربند ۱۰-۳ مراجعه شود).

در صورت عدم استفاده از جدول، می‌توان از فرمول‌های (۳) و (۴) استفاده کرد به این شرط که تعداد سلول‌های مشاهده شده بیشتر از ۱۵ سلول باشد.

1- Over-disperse

$$a_1 = \frac{1}{4}\left(\sqrt{4N-1} - u_{1-\alpha/2}\right)^2 \quad (۳)$$

$$a_2 = \frac{1}{4}\left(\sqrt{4N+1} + u_{1-\alpha/2}\right)^2 \quad (۴)$$

که در آن:

$$u_{1-\alpha/2} = 1.96$$

۱۰-۴-۳ حدود اطمینان دُز

مرسوم‌ترین روش برای تخمین عدم قطعیت دُز، ترکیب حدود اطمینان فراوانی دی‌سانتریک‌ها به عدم قطعیت‌ها بر روی منحنی است. سپس، مقدار بالاتر حد اطمینان برای حد بالای منحنی دُز-پاسخ و مقدار پایین‌تر حد اطمینان برای حد پایین منحنی دُز-پاسخ گزارش می‌شود.

آزمایشگاه باید در نتایج خود، روش مورداستفاده برای تعیین عدم قطعیت گسترده را گزارش کند. به‌عنوان مثال: بازه اطمینان ٪ ۹۵، مطابق با استاندارد ISO 5725-1 به‌دست آمده است.

مسئول فنی آزمایشگاه باید روش‌های مورداستفاده برای تعیین حدود اطمینان را تعریف کند.

۱۰-۵ موارد پرتوگیری حاد و غیر حاد

اگر مدت زمان پرتوگیری حاد کمتر از ۰٫۵ ساعت باشد، تخمین دُز می‌تواند با استفاده از منحنی کالیبراسیون درون‌آزمایشگاهی تهیه‌شده با دُز حاد، انجام شود. اگر پرتوگیری به‌صورت طولانی‌مدت و بیشتر از ۲۴ ساعت طول کشیده باشد، تخمین دُز می‌تواند با استناد به سطح زمینه و ضرایب خطی منحنی کالیبراسیون حاد انجام شود. برای زمان پرتوگیری حاد بین ۰٫۵ ساعت تا ۲۴ ساعت، در صورت وجود منحنی، میزان شکست اندازه‌گیری‌شده بر اساس منحنی کالیبراسیون غیرحاد متناسب، تفسیر می‌شود. در صورت کاهش ضریب مجذور دُز، می‌توان از منحنی حاد نیز استفاده کرد. این ضریب را می‌توان با استفاده از روش تابع G محاسبه کرد. توضیح بیشتر درخصوص این روش در گزارش‌های فنی آژانس بین‌المللی انرژی اتمی موجود است.

اگر پرتوگیری حاد متناوب باشد، هر مورد پرتوگیری را می‌توان به‌صورت مستقل در نظر گرفت. یعنی اگر فاصله بین دو پرتوگیری بیشتر از پنج ساعت باشد، اثرات آن‌ها افزایشی خواهد بود. اگر زمان پرتوگیری کمتر از پنج ساعت باشد، باید یک فاکتور اثر متقابل، با در نظر گرفتن یک ثابت زمانی دو ساعت، تخمین زده شود.

آزمایشگاه باید در هنگام گزارش نتایج پرتوگیری‌های غیرحاد، روش تصحیح تخمین دُز و در صورت لزوم، توجیه فرضیات در نظر گرفته‌شده را بیان کند.

۱۰-۶ موارد پرتوگیری بخشی از بدن و پرتوگیری پیشین

در موارد پرتوگیری بخشی از بدن با پرتوهای LET پایین، می‌توان، بسته به شرایط خاص، حاصل شکست‌های اندازه‌گیری شده را به‌صورت بخش پرتودیده بدن و میانگین دُز آن تفسیر کرد. این کار با استفاده از روش Qd[1] یا روش پوآسون ناخالص[2] امکان‌پذیر است.

در روش پوآسون ناخالص، فراوانی دی‌سانتریک‌های بخش پرتودیده (Y) با استفاده از فرمول (۵) و حل کردن مقدار Y با تکرار، محاسبه می‌شود.

$$\frac{Y}{(1-e^{-y})} = \frac{X}{(N-n_0)} \qquad (۵)$$

که در آن:

Y متوسط میزان دی‌سانتریک‌ها در بخش پرتودیده؛

e^{-y} سلول‌های صدمه ندیده در بخش پرتودیده؛

N تعداد سلول‌های شمارش‌شده؛

X تعداد دی‌سانتریک‌های مشاهده‌شده؛

n_0 تعداد سلول‌های بدون دی‌سانتریک است.

برای محاسبه حدود اطمینان ٪ ۹۵ برای Y، روش بیان‌شده در زیربند ۱۰-۴-۲ باید به‌کار گرفته شود.

با استفاده از فرمول (۶)، بخش سلول‌های شمارش‌شده که پرتو دیده‌اند (f) را می‌توان محاسبه کرد:

$$Yf = \frac{X}{N} \qquad (۶)$$

با استفاده از فرمول ۷، بخش سلول‌های در معرض پرتوگیری (F) را می‌توان محاسبه کرد:

$$F = \frac{\frac{f}{p}}{(1-f)+\frac{f}{p}} \qquad (۷)$$

که در آن:

f آن بخش از سلول‌های شمارش‌شده که در معرض پرتو قرار گرفته است؛

1- Quotient of dicentrics

در این استاندارد، فقط فراوانی دی‌سانتریک‌ها لحاظ شده است، درحالی‌که در روش Qdr اصولاً مجموع دی‌سانتریک‌ها و حلقه‌ها بررسی می‌شوند.

2- Contaminated Poisson techniques

p کسری از سلول‌های پرتودیده‌ای که به متافاز رسیده‌اند (با در نظر گرفتن تأخیر میتوزی و مرگ اینترفازی). مقادیر p با استفاده از فرمول (۸) تخمین زده می‌شود.

$$p = \exp\left(\frac{-D_T}{D_{T_0}}\right) \quad (۸)$$

که در آن:

D_T دُز تخمین زده‌شده؛

D_{T_0} دُزی که در آن ٪ ۳۷ مرگ سلولی مورد انتظار است.

در صورت نداشتن داده‌های مشخص، برای پرتودهی فوتونی مقدار پیش‌فرض ۳٫۵ گری برای D_{T_0} لحاظ شود.

با استفاده از روش Qd، برای تخمین دُز رسیده به بخش پرتودیده، از فرمول (۹) استفاده می‌شود.

$$\frac{X}{Cu} = \frac{Y_1}{(1 - e^{(Y_1 - Y_2)})} \quad (۹)$$

که در آن:

X تعداد دی‌سانتریک‌ها؛

Cu تعداد سلول‌های دارای شکست‌های ناپایدار کروموزومی (دی‌سانتریک یا قطعات آسنتریک)؛

Y_1 میزان دی‌سانتریک مورد انتظار؛ و

Y_2 آسنتریک‌های اضافه مورد انتظار است.

Y_1 و Y_2 هر دو تابعی از دُز بوده و از منحنی‌های دُز-پاسخ درون‌آزمایشگاهی قابل‌استخراج است. دُزهای تخمین‌زده شده از فرآیند تکراری استخراج می‌شوند. در این موارد، خطاهای استاندارد با در نظر گرفتن واریانس دی‌سانتریک در سلول‌های دارای شکست محاسبه می‌شود. با روش Qd، اطلاعات کسر سلول‌های شمارش‌شده که پرتو دیده‌اند و کسر سلول‌های بدن که اساساً پرتو گرفته‌اند به کمک تبدیل دُز تخمین‌زده شده به میزان شکست‌ها و سپس استفاده از فرمول‌های (۶) و (۷) استخراج می‌شوند.

اگر پرتوگیری در مدت‌زمان طولانی قبل از خون‌گیری صورت گرفته باشد، تخمین دُز به کمک سنجش دی‌سانتریک، مقدار دُز را کمتر از واقع نشان می‌دهد. اگر زمان و طول مدت پرتوگیری پیشین مشخص باشد، فراوانی دی‌سانتریک‌های شمارش‌شده باید با در نظر گرفتن نیمه‌عمر سه سال برای ناپدید شدن شکست تعدیل شود. در موارد پرتوگیری‌های پیشین، اگر پرتوگیری به حدی باشد که سبب بروز آثار قطعی شده باشد، نیمه‌عمر کوتاه‌تری را باید لحاظ کرد.

در تمامی موارد، آزمایشگاه باید در گزارش نتایج خود روش به‌کار برده شده برای تصحیح دُز پرتوگیری بخشی از بدن یا پرتوگیری پیشین را اعلام کند.

۱۱ گزارش نتایج

۱-۱۱ کلیات

به‌طورمعمول، گزارش نتایج باید دربرگیرنده اطلاعاتی باشد که توسط درخواست‌کننده ارائه شده است، زیرا این اطلاعات ممکن است در تفسیر یافته‌های آزمایشگاه مؤثر باشند. کلیه شکست‌های مشاهده‌شده، باید بر مبنای درک کنونی از مکانیسم‌های ایجاد شکست‌های کروموزومی ناشی از پرتو فهرست و تفسیر شوند.
گزارش نتایج باید شامل موارد زیر باشد:

۲-۱۱ محتوای گزارش

یادآوری- به پیوست **پ** به‌عنوان یک فرم استاندارد مراجعه شود.

این گزارش باید شامل اطلاعات زیر باشد:

الف- عنوان گزارش، یعنی «گزارش آزمون»؛

ب- نام و نشانی آزمایشگاه؛

پ- اختصاص کُد شناسه به گزارش، یعنی دادن کُد اختصاصی مربوط به مستندات توسط سیستم ثبت سازمانی؛

ت- نام و نشانی درخواست‌کننده، تاریخ درخواست؛

ث- تشریح روش آزمون، یعنی تعداد و نام روش استفاده شده که در سیستم کنترل کیفی داخلی توصیف شده‌اند و در صورت لزوم، هرگونه انحراف در روش آزمون؛

ج- تطبیق نمونه با نام، کُد داخلی و تاریخ تولد فرد؛

چ- توصیف فرد، یعنی اطلاعات مرتبط ارائه‌شده توسط درخواست‌کننده که باید در تفسیر نتایج لحاظ شود؛

ح- زمان و محل خون‌گیری، زمان دریافت نمونه، کِشت و نیز اتمام آزمون؛

خ- نتایج آزمون، یعنی تعداد سلول‌های شمارش‌شده، نوع و تعداد شکست‌های کروموزومی مشاهده‌شده؛

د- تفسیر نتایج آزمون (به زیربند ۱۱-۳ مراجعه شود)؛

ذ- نام(ها)، عنوان(ها)، جایگاه(ها) و امضا(ها)ی تأییدکننده(ها)ی گزارش به همراه اطلاعات تماس.

۳-۱۱ تفسیر نتایج

با این‌که تفسیر نتایج به شرایط پرتوگیری فرد بستگی دارد، اما گزارش باید یک یا چند مورد زیر را شامل شود:

الف- تخمین دُز بر اساس فراوانی شکست‌های دی‌سانتریک که با واحد دُز جذبی (گری) درسیستم بین‌المللی یکاها (SI)، بیان می‌شود؛

ب- بیان احتمال این‌که شکست‌هایی که در تخمین دُز به‌کار رفته در ارتباط با حادثه پرتوی موردنظر بوده است یا خیر؛

پ- میزان دی‌سانتریک زمینه در آزمایشگاه و ضرایب منحنی کالیبراسیون که برای تبدیل شکست‌ها به دُز، مورد استفاده قرار گرفته اند؛

ت- بیان کمی عدم قطعیت بر روی دُز تخمین زده‌شده، که این معمولاً حد بالا و در مواقعی حد پایین اطمینان و درصد سطح اطمینان را نشان می‌دهد؛

ث- بیان آن‌که دُز تخمین زده‌شده چگونه پرتوگیری حاد یا پیوسته را نشان می‌دهد و اگر پرتوگیری پیوسته بوده، استمرار آن چگونه در محاسبه دُز لحاظ شده است؛

ج- در صورت نیاز، پرتوگیری بخشی از بدن و تأخیر بیش از حد بین زمان حادثه و خون‌گیری در تفسیر نتایج لحاظ شود؛

چ- توضیح در مورد مشاهده سلول‌های دارای شکست متعدد و در صورت نیاز، تفسیر دُزسنجی بر اساس آن؛

ح- در مورد وقوع سایر انواع شکست‌های شمارش‌شده که در تخمین دُز استفاده نشدند، توضیح داده شود.

خ- خلاصه‌ای از مطالب کلیدی موارد که به‌طورمعمول شامل بهترین تخمین دُز بر اساس یافته‌های سیتوژنتیک است؛

د- در انتهای گزارش از درخواست‌کننده اعلام شود تا در صورت نیاز به توضیح بیشتر درباره نتایج و یا سنجش آن‌ها، با آزمایشگاه تماس بگیرد.

۱۲ تضمین کیفیت و کنترل کیفی

۱-۱۲ کلیات

مدیریت کیفیت باید بهبود پیوسته فعالیت‌ها را تضمین کند. الزامات تضمین کیفیت و کنترل کیفی الزام شده در استاندارد ISO/IEC 17025 باید مطابق با این استاندارد در آزمایشگاه رعایت شود. روش‌های اجرایی اختصاصی تضمین کیفیت و کنترل کیفی در آزمایشگاه‌هایی که به‌وسیله روش‌های سیتوژنتیک، دُزسنجیِ بیولوژیکی انجام می‌دهند، در این استاندارد تعیین شده است.

۱۲-۲ الزامات ویژه

۱۲-۲-۱ کلیات

برنامه‌های مقایسه‌ای باید با دیگر آزمایشگاه‌های دُزسنجی بیولوژیکی (با روش‌های سیتوژنتیک) واجد شرایط یا اعتباردهی‌شده برقرار و اندازه‌گیری‌های دوره‌ای انجام شود.
استاندارد ISO 5725 به‌طور اختصاصی، به روش‌های تجزیه و تحلیل آماری برای آزمون قابلیت اطمینان و دقت روش کاری پرداخته است. آزمون‌های پیشنهادشده در صورتی قابل استفاده است که تعداد نمونه‌های مورد بررسی زیاد باشند.

۱۲-۲-۲ بررسی کارایی با مقایسه‌های بین آزمایشگاهی

آزمون‌های مهارتی از ابزارهای ضروری تضمین کیفیت در آزمایشگاه است چون به‌طور عینی کارایی آزمایشگاه را از دو جنبه فنی و نیروی انسانی مورد ارزیابی قرار می‌دهد .
داده‌های برخی از آزمایشگاه‌ها که با داده‌های سایر آزمایشگاه‌ها ناسازگار است می‌تواند تخمین‌ها را تغییر دهد. به‌منظور رد یا تصحیح مقادیر ناسازگار، از دو رویکرد می‌توان استفاده کرد (به استانداردهای ISO 5725-2 یا ISO 5725-5 مراجعه شود).

الف- استفاده از «آزمون اعداد پرت»[1] (آزمون‌های آماری کوکران[2] و گرابس[3]) برای حذف داده‌هایی که از مقدار بحرانی آزمون در سطح معنی‌دار ٪ ۱ (سطح اطمینان ٪ ۹۹) فراتر بوده‌اند؛

ب- استفاده از روش‌های آماری قوی برای بررسی داده‌ها تا مقادیر میانگین و انحراف معیار داده‌ها با صحت بالا به دست آید.

روش اجرایی به‌صورت زیر است:

الف- برای انجام «آزمون اعداد پرت» در مقایسه کارایی بین آزمایشگاهی، باید داده‌های حداقل پنج آزمایشگاه موجود باشد تا آزمون آماری با قدرت بالا انجام شود (به استاندارد ISO 5725-1 مراجعه شود).

ب- مقادیر میانگین و انحراف معیار بین آزمایشگاهی پس از حذف یا تصحیح داده‌های خارج از محدوده تخمین زده شود. روش ترجیحی، محاسبه متغیرهای با قدرت بالا است.

پ- کارایی آزمایشگاه با محاسبه متغیرهای *z*-score و *zeta*-score تعیین می‌شود. *z*-score از نتایج آزمایشگاهی، مقادیر مرجع و انحراف معیار تخمین‌زده شده، محاسبه می‌شود و *zeta*-score مقادیر عدم قطعیت‌های آزمایشگاه شرکت‌کننده و مقدار مرجع را نیز در محاسبه لحاظ می‌کند.

1- Numerical outlier tests
2- Cochran
3- Grubbs

۱۲-۲-۳ بررسی دوره‌ای احراز صلاحیت شمارش‌کننده‌ها

حداقل هر دو سال یک‌بار، با انجام مقایسه درون آزمایشگاهی، فهرستی از افراد باصلاحیت برای شمارش لام‌ها تهیه می‌شود. برای احراز صلاحیت، هر فرد شمارش‌کننده باید نمونه لنفوسیت‌های پرتودیده با دُز بیشتر از یک گری (به‌صورت حاد) و نمونه لنفوسیت‌های پرتودیده با دُز کمتر از یک گری (به‌صورت حاد) را مطابق با فعالیت استاندارد آزمایشگاه مورد شمارش قرار دهد.

در صورتی صلاحیت فرد شمارش‌کننده محرز می‌شود که میزان شکست‌های شمارش‌شده توسط وی در محدوده اطمینان ٪ ۹۵ منحنی کالیبراسیون مرجع آزمایشگاه باشد. به‌عنوان مثال، اگر شمارش‌کننده در نمونه آزمون، ۴۸ دی‌سانتریک را در ۱۰۰۰ سلول مشاهده کند با منحنی کالیبراسیون آزمایشگاه که میزان ۰٫۰۵ دی‌سانتریک در هر سلول را پیش‌بینی می‌کند سازگار است (بر اساس منحنی مرجع با حدود اطمینان ٪ ۹۵، حد پایین: ۰٫۰۳۵ و حد بالا: ۰٫۰۶۳ است).

۱۲-۲-۴ بررسی کارایی نحوه انتقال نمونه‌ها

در بسیاری از موارد، جمع‌آوری نمونه‌های خون در محلی دور از آزمایشگاه صورت گرفته و انتقال آن ضروری است. درخواست‌کننده، مسئول اطمینان از انتقال نمونه‌های خون در شرایط دمایی بهینه (۶ درجه سانتی‌گراد تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد) است. در صورت انتقال هوایی، نمونه‌ها نباید از زیر دستگاه پرتو ایکس بازرسی‌های امنیتی عبور داده شوند. برای اطمینان، باید یک دُزسنج فیزیکی در بسته‌ها قرار داده شود. در انتقال بین‌المللی، مجوزهای مناسب باید اخذ شده تا از ایجاد تأخیر در گمرک ممانعت شود. کلیه جزئیات مربوط به نحوه جمع‌آوری و نگهداری خون باید ثبت شود.

۱۲-۲-۵ بررسی کارایی درستی نمونه توسط آزمایشگاه

یک سیستم برای ثبت، جمع‌آوری، انتقال و نگهداری نمونه‌های خون باید ایجاد شود تا درستی نمونه‌ها را تضمین کند. استفاده از نمونه‌های کُدگذاری شده برای اجتناب از خطاهای بالقوه در شمارش ضروری است.

۱۲-۲-۶ بررسی کارایی تجهیزات اندازه‌گیری

کارایی تجهیزات اندازه‌گیری باید تا زمانی که مورد استفاده قرار می‌گیرند، در فواصل منظم مورد بررسی و ارزیابی قرار گیرند.

انکوباتورها، ترازوها، دماسنج‌ها، پیپت‌ها و فریزرها، مثال‌هایی از این تجهیزات مهم هستند.

به‌عنوان مثال، پایداری درجه حرارت انکوباتورها باید کنترل شود.

در صورت استفاده از ترازو نیز باید آن را به‌صورت دوره‌ای بررسی کرد.

این بررسی‌ها باید اطمینان دهد که تجهیزات اندازه‌گیری به‌طور مناسب کالیبره بوده و تمامی اجزاء آن به‌درستی کار می‌کنند.

۱۲-۲-۷ بررسی کارایی روش نمونه‌گیری

به عنوان یک روش تضمین کیفیت داخلی، نمونه‌های پرتوندیده منفی از نمونه‌های پرتوندیده و در صورت امکان، نمونه‌های پرتوندیده مثبت (پرتودیده) داخلی برای برای بررسی و اثبات قابل‌اطمینان بودن روش‌های اجرایی باید مورد استفاده قرار گیرند. نمونه‌های خون افراد پرتودیده و پرتوندیده باید به‌صورت یکسان، مورد آزمایش قرار گیرند. همچنین نمونه‌گیری هر دو گروه باید هم‌زمان (و نه به‌صورت متوالی) انجام شود.
برای تفسیر نتایج، شمارش لنفوسیت‌های هر نمونه خون قبل از شروع کِشت می‌تواند مفید باشد. باید جزئیات دستورالعمل‌های کِشت، تثبیت سلولی و رنگ‌آمیزی لام‌ها تشریح شود. توصیه می‌شود که مواد مصرفی مورداستفاده در طول آزمایش از یک بهر مشخص باشد. ترکیب تمامی مواد مورداستفاده باید تا حد امکان به‌طور دقیق توصیف شود.

۱۲-۲-۸ بررسی کارایی شمارش نمونه

باید از معیارهای یکسانی برای شمارش استفاده شود. شمارش باید توسط افراد باتجربه و آموزش‌دیده انجام شود. اگر افراد متفاوتی کار شمارش را انجام می‌دهند، همگی باید از یک روش و برنامه متعادل در شمارش استفاده کنند. ترجیحاً چند شمارش‌کننده متفاوت باید تعداد یکسانی از متافازهای هر نمونه را بررسی کنند تا آن‌که یک شمارش‌کننده به‌طور کامل همه سلول‌های یک نمونه را شمارش کند. بررسی متقابل نتایج شمارش ضروری است. نام و نام خانوادگی فرد شمارش‌کننده باید ثبت شود.

۱۲-۲-۹ بررسی کارایی تخمین دُز و حدود اطمینان آن

برای بررسی‌های آماری تک‌متغیره، باید از آزمون‌های غیرپارامتری استفاده کرد. بازه اطمینان پرتوگیری با استفاده از دو عامل عدم قطعیت میزان دی‌سانتریک‌ها و تأثیر تنوع فردی در منحنی دُز- پاسخ (که به‌طور مشخص در رسم منحنی به‌دست آمده است) باید محاسبه شود. در پرتوگیری‌های مزمن و حاد باید از رابطه دُز- پاسخ مناسب استفاده شود. برای نشان دادن قابل‌اعتماد بودن روش کار و شمارش، نتایج نمونه‌های پرتوندیده مثبت و منفی مربوط به تضمین کیفیت داخلی، مورداستفاده قرار می‌گیرد.

۱۲-۲-۱۰ بررسی کارایی گزارش نتایج

باید اطمینان حاصل شود که گزارش ارائه‌شده به درخواست‌کننده، حاوی تمامی اطلاعات ضروری ذکرشده در این استاندارد باشد (به بند ۱۱ مراجعه شود). اطلاعات ضروری که باید در گزارش ذکر شوند شامل: موضوع آزمایش، مشخصات درخواست‌کننده، اطلاعات پرتوگیری، زمان پرتوگیری، زمان خون‌گیری، نتایج شمارش، تفسیر نتایج به‌صورت دُز، عدم قطعیت تخمین زده‌شده و چگونگی استخراج نتایج فوق است.

پیوست الف

(آگاهی‌دهنده)

نمونه دستورالعمل برای درخواست‌کننده

الف-۱ دستورالعمل خون‌گیری برای بررسی کروموزومی

امروزه، بررسی شکست‌های کروموزومی در لنفوسیت‌های خون محیطی انسان، به‌عنوان روشی استاندارد برای تخمین دُز بیولوژیکی در پرتوگیری به‌کار می‌رود. در صورت نداشتن دُزسنج فیزیکی یا غیرفعال بودن آن، محو شدن و یا مبهم بودن اطلاعات نتایج دُزسنجی، از این روش استفاده می‌شود. به‌منظور بهینه‌سازی، بسیار مهم است که خون‌گیری و انتقال آن به آزمایشگاه بر اساس دستورالعمل زیر انجام شود:

- قبل از نمونه‌گیری خون آزمایشگاه را مطلع کنید تا آمادگی لازم برای دریافت آن فراهم شود.
- نمونه‌های خون را در لوله‌های حاوی **هپارین لیتیم** و به حجم حداقل ۱۰ میلی‌لیتری (دو لوله ۵ میلی‌لیتری) جمع‌آوری کرده و لوله‌ها را به‌آرامی به مدت ۲ دقیقه تکان دهید تا مطمئن شوید به‌خوبی مخلوط شده است. لوله‌ها را با دقت برچسب زده و پرسش‌نامه را تکمیل کنید.
- نمونه خون را با دقت بسته‌بندی کنید تا از شکستن آن طی انتقال جلوگیری شود. درخواست‌کننده، مسئول اطمینان از انتقال نمونه‌های خون در شرایط دمایی بهینه (۶ درجه سانتی‌گراد تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد) است. اگر احتمال دارد که درجه حرارت بالا رود می‌توان یک دماسنج حداقل–حداکثر در آن بسته قرار داد. **نمونه‌های خون نباید منجمد شوند.** یک روش برای نگهداری خون در دمای اتاق، قرار دادن لوله‌ها بر روی یک بسته ژل سرد است که می‌تواند چندین ساعت آن را در این دما حفظ کند. همچنین اطمینان حاصل کنید که نمونه‌ها در طول انتقال (به‌عنوان مثال پست هوایی) منجمد نمی‌شوند.
- بر روی بسته بنویسید: **نمونه‌های تشخیصی فوری- نباید منجمد شود**.
- در صورت انتقال هوایی، نمونه‌ها نباید از زیر دستگاه پرتو ایکس بازرسی‌های امنیتی عبور داده شوند. برای اطمینان، باید یک دُزسنج فیزیکی در بسته‌ها قرار داده شود. در انتقال بین‌المللی، مجوزهای مناسب باید اخذ شده تا از ایجاد تأخیر در گمرک ممانعت شود. بسته‌بندی و برچسب زدن در انتقال هوایی، باید مطابق با قوانین بین‌المللی انتقال هوایی (IATA)[1] باشد. انتقال نمونه‌های خون باید مطابق قانون ۶۰۲ سازمان ملل متحد برای مواد عفونی باشد. بر روی بسته و بر روی فرم مخصوص حمل هوایی «ماهیت و مقدار مواد» باید عبارت «نمونه تشخیصی- بسته‌بندی‌شده مطابق دستورالعمل شماره ۶۵۰ IATA» ذکر شود.

1- International Air Transport Association

- بر روی بسته و مدارک حمل هوایی بنویسید: **تحت تابش پرتو ایکس قرار نگیرد**.
- بلافاصله پس از خون‌گیری، نمونه را با حمل ویژه ارسال و از خطوط هوایی اکسپرس شبانه استفاده کنید تا آزمایشگاه بتواند در ابتدای صبح نمونه خون را دریافت کند. با آزمایشگاه تماس گرفته و ارسال بسته را تأیید کنید و شماره **بارنامه** را اطلاع دهید. این کار برای پیگیری و یافتن سریع نمونه بسیار مهم است.
- برای دستیابی به بهترین نتیجه، خون باید ظرف ۲۴ ساعت پس از نمونه‌گیری توسط آزمایشگاه دریافت شود.
- کلیه جزئیات مربوط به نحوه خون‌گیری و نگهداری نمونه باید ثبت شود.

مسئول فنی آزمایشگاه:

نشانی آزمایشگاه:

تلفن:

نمابر:

پست الکترونیکی:

پیوست ب

(آگاهی‌دهنده)

نمونه فرم پرسش‌نامه

اطلاعات پرتوگیری برای بررسی شکست‌های کروموزومی (توسط درخواست‌کننده آزمایش تکمیل شود).

۱ – اینجانب ..... متولد..... (روز / ماه / سال) رضایت خود را در دادن نمونه خون برای تخمین شکست‌های کروموزومی ناشی از پرتوگیری اعلام می‌دارم. امضاء

مشخصات فرد خون‌گیر :.....نام آزمایشگاه : .....

نشانی آزمایشگاه :.....

تلفن :.....نمابر :.....پست الکترونیکی : .....

تاریخ و زمان خون‌گیری :..... (روز / ماه / سال) ضد انعقاد :.....

اطلاعات پرتوگیری : □ پرتوکار □ غیرپرتوکار

۱ – تاریخ و ساعت پرتوگیری:..... (روز / ماه / سال – ساعت)

۲ – مکان پرتوگیری: ..... شرکت: .....

۳ – خلاصه شرح پرتوگیری:

۴- پرتوگیری تمام بدن □ پرتوگیری بخشی از بدن □ آلودگی داخلی □

مقدار دُز :..... بخش از بدن : ..... ماده پرتوزا: .....

مقدار دُز : ..... مقدار دُز :.....

این مقدار دُز چگونه به‌دست‌آمده است:

۵ – نوع پرتو : پرتو ایکس □ انرژی؟.....

گاما □ منشأ؟.....

آلفا □ منشأ؟.....

نوترون □ منشأ؟..... انرژی؟.....

الکترون □ منشأ؟..... انرژی؟.....

اطلاعات بیمار :

۱ – پرتوگیری‌های قبلی از طریق آزمون‌های پزشکی:

پرتودرمانی □ تاریخ، کدام بخش از بدن.....

رادیولوژی تشخیصی با پرتو ایکس □ تاریخ، کدام بخش از بدن.....

پزشکی هسته‌ای □ تاریخ، کدام بخش از بدن.....

۲ – سابقه بیماری در طول ۴ هفته قبل از خون‌گیری : .....

۳ – مصرف دارو □

نام دارو..... مقدار مصرف: .....مدت‌زمان مصرف: .....

۴ – سیگاری خیر □ بلی □ چند نخ در روز : .....

۵ – بیماری دیگر:

HIV □ هپاتیت □

نتایج بررسی کروموزومی به آدرس زیر ارسال شود :

نام و نام خانوادگی: .....

نشانی: .....

تلفن: .....

پیوست پ

(آگاهی‌دهنده)

نمونه فرم گزارش‌دهی

نام، نشانی، تلفن و ایمیل درخواست‌کننده:

تاریخ درخواست:

ارزیابی دُز بیولوژیک/ بررسی کروموزومی

نمونه	تاریخ، و مکان نمونه‌برداری	تاریخ دریافت نمونه	تاریخ آزمایش
کد، نام و تاریخ تولد فرد پرتودیده			

روش (های) بررسی

سایر اطلاعات نمونه‌برداری

نتایج

جدول. نتایج آزمون

تعداد آسیب‌های کروموزومی

نمونه	تعداد سلول شمارش‌شده	دی‌سانتریک	حلقه	آسنتریک	سایر

تفسیر نتایج

امضاءها و اطلاعات تماس

این گزارش، فقط با اجازه کتبی قبلی و ذکر نام آزمایشگاه می‌تواند کپی و یا منتشر شود. نتایج آزمون فقط برای نمونه‌های آزمایش‌شده، قابل‌استفاده است.

پیوست ت

(آگاهی‌دهنده)

برازش منحنی دُز-پاسخ پرتوهای LET پایین با استفاده از روش درست‌نمایی بیشینه و محاسبه خطای تخمین دُز

ت-۱ دستورالعمل برازش

پرتوگیری لنفوسیت‌های خون با N تعداد دُز از پرتوی x_i $(i = 1,2\ldots N)$ را در نظر بگیرید. داده‌های زیر به دست می‌آید:

r_i: تعداد شکست‌ها؛

n_i: تعداد سلول‌های شمارش‌شده برای دُز i؛

$y_i = r_i/n_i$: فراوانی شکست‌ها به ازای هر سلول برای دُز i؛

فرض می‌شود که سلول‌ها تحت تابش پرتوهای LET پایین قرار گرفته‌اند و توزیع شکست‌ها پوآسونی باشد. در این صورت:

$$P\,(r_i) = \frac{(n_i\lambda_i)^{r_i}}{r_i!}\, e^{-n_i\lambda_i} \qquad (ت-۱)$$

در این‌جا $n_i\lambda_i = E(r_i) n_i\lambda_i = E(r_i)$ و $\lambda_i = E(y_i)\lambda_i = E(y_i)$ (فراوانی شکست‌های مورد انتظار به ازای سلول). واریانس y_i برابر با $V(y_i) = \lambda_i/n_i$ $V(y_i) = \lambda_i/n_i$ است.

بنابراین، برای داده‌های $x_1,x_2,\ldots,x_N$، $r_1,r_2,\ldots,r_N$ و $y_1,y_2,\ldots,y_N$، احتمال برابر با $P\ (r_1,r_2,\ldots,r_N)$ $= \prod_{i=1}^{N} \frac{(n_i\lambda_i)^{r_i}}{r_i!}\, e^{-n_i\lambda_i} \prod_{i=1}^{N} \frac{(n_i\lambda_i)^{r_i}}{r_i!}\, e^{-n_i\lambda_i}$ است.

این عبارت به‌اصطلاح تابع درست‌نمایی نامیده می‌شود.

رابطه مشاهده‌شده بین دُز و فراوانی شکست با استفاده از فرمول درجه دوم $y_i = \beta_2 x_i^2 + \beta_1 x_i + \beta_0$ قابل برازش است، β_0، β_1، β_2 نامعلوم هستند.

هدف از دستورالعمل برازش، شناسایی مقداری از ضرایب β_0، β_1، β_2 است تا تابع درست‌نمایی به مقدار بیشینه برسد. همان‌طور که در زیر تشریح شده است، این مقدار بیشینه را می‌توان با استفاده از روش تکرار درست‌نمایی بیشینه محاسبه کرد:

با شرط:

$$l = \ln\,(P(r_1,r_2,\ldots,r_N)) \qquad (ت-۲)$$

آن‌گاه؛

$$l = ln\left(\prod_{i=1}^{N} \frac{(n_i\lambda_i)^{r_i}}{r_i\,!}\, e^{-n_i\lambda_i}\right) = \sum_{i=1}^{N}(r_i \ln\lambda_i - n_i\lambda_i + r_i \ln n_i - \ln r_i!) \qquad \text{(ت-۳)}$$

تابع ll برای $(\beta_k)_{k=0,1,2}$ به مقدار بیشینه می‌رسد، در این صورت $\frac{\partial l}{\partial \beta_k}\frac{\partial l}{\partial \beta_k}$ برابر صفر خواهد شد. این عبارات را به‌اصطلاح معادلات درست‌نمایی می‌نامند و تنها با روش تکرار قابل حل هستند.

تقریب‌های بعدی متغیر $\beta^T = (\beta_k)_{k=0,1,2}$ به‌صورت $_j\beta$ تعیین می‌شوند که در اینجا $j = 0,1,\ldots p\text{-}1$ و مقدار p یک عدد طبیعی است که آخرین تقریب از ضرایب $(\beta_k)_{k=0,1,2}$ را مشخص می‌کند. اولین تقریب متغیر $_0\beta$ یا تخمین زده شده و یا از مطالعات قبلی به دست می‌آید. تقریب دوم $_1\beta$ به‌صورت $_1\beta = {}_0\beta + \delta_0\beta$ به‌دست می‌آید که در اینجا $\delta_0\beta$ از گسترش تابع $l'(\beta)$ در حدود نقطه $\beta = {}_0\beta$ به سمت سری‌های تیلور[1] تعیین می‌شود. با این فرض که فرمول درست‌نمایی به‌شرط $\beta = {}_1\beta$ برآورده شود، $l'(_1\beta) = 0$ به‌دست می‌آید و درنتیجه $\delta_0\beta = -\frac{l'(_0\beta)}{l''(_0\beta)}$ خواهد بود. بدیهی است، $l''(_0\beta) \approx -E(l$ با در نظر گرفتن $I(_0\beta) = -E(l''(_0\beta))$، رابطه $_1\beta = {}_0\beta + \delta_0\beta = {}_0\beta + \frac{\acute{I}(_0\beta)}{I(_0\beta)}\frac{\acute{I}(_0\beta)}{I(_0\beta)}$ به‌دست می‌آید. با تکرار این فرآیند، تقریب‌های متوالی مطابق رابطه زیر خواهد بود:

$$_2\beta = {}_1\beta + \delta_1\beta = {}_1\beta + \frac{\acute{I}(_1\beta)}{I(_1\beta)}\frac{\acute{I}(_1\beta)}{I(_1\beta)}, \text{ etc } \ldots, {}_j\beta = {}_{j\text{-}1}\beta + \delta_{j\text{-}1}\beta = {}_{j\text{-}1}\beta + \frac{\acute{I}(_{j\text{-}1}\beta)}{I(_{j\text{-}1}\beta)}\frac{\acute{I}(_{j\text{-}1}\beta)}{I(_{j\text{-}1}\beta)}$$

. برای مقاصد کاربردی، می‌توان فرض کرد که دقت $\beta_j\beta$ زمانی مناسب است: $|_{j+1}\beta\text{-}_j\beta||_{j+1}\beta\text{-}_j\beta| < \varepsilon$ که در اینجا:

$$|_{j+1}\beta - {}_j\beta| = \begin{bmatrix} |j+1\beta_0 - j\beta_0| \\ |j+1\beta_1 - j\beta_1| \\ |j+1\beta_2 - j\beta_2| \end{bmatrix} \quad \text{و} \quad \begin{matrix} |j+1\beta_0 - j\beta_0| < \varepsilon \\ |j+1\beta_1 - j\beta_1| < \varepsilon \\ |j+1\beta_2 - j\beta_2| < \varepsilon \end{matrix} \quad \text{و} \quad \varepsilon = 0{,}00000000000001.$$

همچنین:

$$I(_0\beta) = -\begin{pmatrix} -\sum_{i=1}^{N}\frac{n_i}{\lambda_i} & -\sum_{i=1}^{N}\frac{n_i}{\lambda_i}x_i & -\sum_{i=1}^{N}\frac{n_i}{\lambda_i}x_i^2 \\ -\sum_{i=1}^{N}\frac{n_i}{\lambda_i}x_i & -\sum_{i=1}^{N}\frac{n_i}{\lambda_i}x_i^2 & -\sum_{i=1}^{N}\frac{n_i}{\lambda_i}x_i^3 \\ -\sum_{i=1}^{N}\frac{n_i}{\lambda_i}x_i^2 & -\sum_{i=1}^{N}\frac{n_i}{\lambda_i}x_i^3 & -\sum_{i=1}^{N}\frac{n_i}{\lambda_i}x_i^4 \end{pmatrix} \quad \text{و} \quad I(_0\beta)\begin{pmatrix}\delta\beta_0\\ \delta\beta_1\\ \delta\beta_2\end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \sum_{i=1}^{N}\left(r_i - n_i e^{x_i^T\,\beta}\right) \\ \sum_{i=1}^{N}\left(r_i - n_i e^{x_i^T\,\beta}\right)x_i \\ \sum_{i=1}^{N}\left(r_i - n_i e^{x_i^T\,\beta}\right)x_i^2 \end{pmatrix}$$

با توجه به این واقعیت که داده‌های جمع‌آوری‌شده شکست کروموزومی ناشی از دُزهای مختلف پرتو، مستقل از یکدیگر هستند، یک ماتریس واریانس-کوواریانس برای تعداد شکست‌ها به ازای هر سلول:

1- Taylor series

یک ماتریس برای فراوانی $v(y) = \begin{bmatrix} \lambda_1/n_1 & & 0 \\ & \ddots & \\ 0 & & \lambda_N/n_N \end{bmatrix} v(y) = \begin{bmatrix} \lambda_1/n_1 & & 0 \\ & \ddots & \\ 0 & & \lambda_N/n_N \end{bmatrix}$ و

$y = \begin{pmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \dots \\ y_N \end{pmatrix} y = \begin{pmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \dots \\ y_N \end{pmatrix}$ ایجاد می‌شود. البته، λ_i نامعلوم است و بنابراین، اولین تخمین $V(y_i)$ به‌صورت $_0V(y_i) =$ y_i/n_i است. از فرمول بالا، دومین تقریب از پارامتر $_1\beta = (\boldsymbol{X}^T{}_0\boldsymbol{V}^{-1}\boldsymbol{X})^{-1}\boldsymbol{X}^T{}_0\boldsymbol{V}^{-1}$ به‌دست می‌آید. درنهایت، پس از تکرار j:

$$_j\beta = (\boldsymbol{X}^T{}_{j-1}\boldsymbol{V}^{-1}\boldsymbol{X})^{-1}\boldsymbol{X}^T{}_{j-1}\boldsymbol{V}^{-1}\boldsymbol{y} \qquad (ت-۴)$$

که $\boldsymbol{V}_{j-1}$، ماتریس قطری با عناصر $(\boldsymbol{x}_i^T{}_{j-1}\beta/n_i)$ است.

پس از تخمین $_1\beta$، اولین تخمین برای تعداد میانگین شکست‌ها به ازای سلول $_1y_i = \boldsymbol{x}_i^T{}_1\beta$ است. درنتیجه، $E(y_i)\approx{}_1y_i$ و $V(y_i)\approx{}_1y_i/n_i$.

ماتریس $\sum = (\mathbf{x}^T{}_{j-1}\mathbf{v}^{-1}\mathbf{x})^{-1}$ یک ماتریس کوواریانس برای ضرایب ارزیابی‌شده است و بنابراین:

$$\sum = \begin{pmatrix} s_{11} & s_{12} & s_{13} \\ & s_{22} & s_{23} \\ & & s_{33} \end{pmatrix} \qquad (ت-۵)$$

که، $s_{11} = var\ \beta_0$، $s_{22} = var\ \beta_1$، $s_{33} = var\ \beta_2$، $s_{12} = s_{21} = cov\ \beta_0\beta_1$، $s_{13} = s_{31} = cov\ \beta_0\beta_2$، $s_{23} = s_{32} = cov\ \beta_1\beta_2$. بنابراین، انحراف استاندارد برای β_0، β_1، β_2 به ترتیب برابر با $\sqrt{s_{11}}\sqrt{s_{11}}$، $\sqrt{s_{22}}\sqrt{s_{22}}$ و $\sqrt{s_{33}}\sqrt{s_{33}}$ است.

ت-۲ محاسبه خطای تخمین دُز

اگر rL و rU به ترتیب حدود پایین و بالای فاصله اطمینان ٪ ۹۵ برای تعداد شکست‌های کروموزومی باشند و اگر r (تعداد شکست‌ها) و n (تعداد سلول‌ها) مقادیر عددی مشخصی باشند، مقدار دُز (x) با این فرمول زیر محاسبه خواهد شد

$x = \frac{-\beta_1+\sqrt{\beta_1^2+4\beta_2(y-\beta_0)}}{2\beta_2} x = \frac{-\beta_1+\sqrt{\beta_1^2+4\beta_2(y-\beta_0)}}{2\beta_2}$ که ضرایب آن با استفاده از روش تکرار درست‌نمایی بیشینه محاسبه می‌شود.

مقادیر xL و xU به‌صورت زیر محاسبه می‌شود:

$$\mathrm{x}L = \frac{-\beta_1 + \sqrt{\beta_1^2 + 4\beta_2(yL - \beta_0)}}{2\beta_2} \qquad \text{(ت-۶)}$$

و

$$xU = \frac{-\beta_1 + \sqrt{\beta_1^2 + 4\beta_2(yU - \beta_0)}}{2\beta_2} \qquad \text{(ت-۷)}$$

که، $\mathrm{yL} = \frac{\mathrm{rL}}{\mathrm{n}}\mathrm{yL} = \frac{\mathrm{rL}}{\mathrm{n}}$ و $\mathrm{yU} = \frac{\mathrm{rU}}{\mathrm{n}}\mathrm{yU} = \frac{\mathrm{rU}}{\mathrm{n}}$ هستند.

بنابراین، روش محاسبه فاصله اطمینان ٪ ۹۵ برای دُز، بر مبنای محاسبه فاصله اطمینان ٪ ۹۵ برای شکست‌ها است.

با توجه به ماهیت پوآسونی توزیع شکست‌ها؛ فاصله اطمینان با استفاده از فرمول $Pois(rL \leq r \leq rU) \approx 0.95$ محاسبه می‌شود.

پیوست ث

(آگاهی‌دهنده)

روش تعیین نسبت شانس برای موارد مشکوک به پرتوگیری با دُز کم

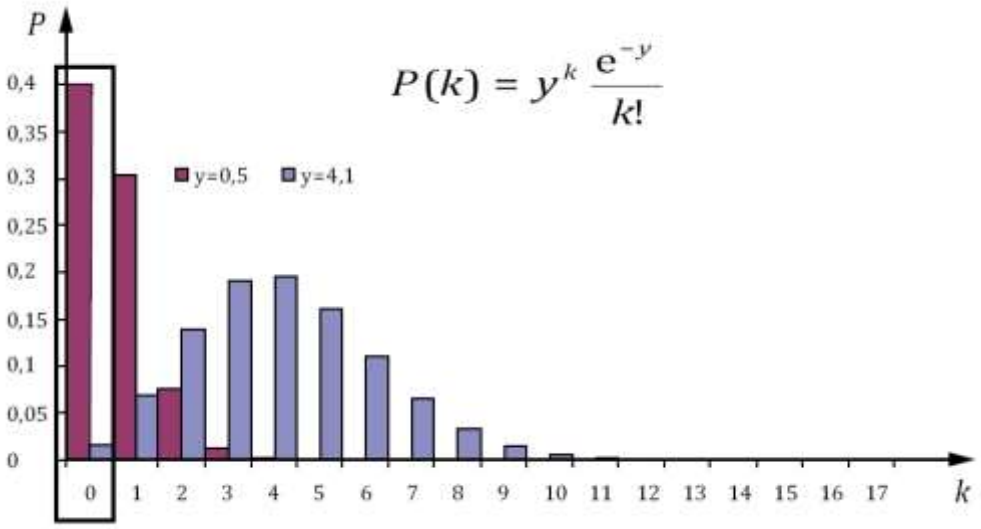
با استفاده از روش تعیین نسبت شانس، محاسبه احتمال نسبی دی‌سانتریک‌های خودبه‌خودی در مقایسه با دی‌سانتریک‌های ناشی از پرتوگیری مشکوک با دُز کم ممکن خواهد شد.

یک مورد پرتوگیری مصدوم پرتوی در کتابچه راهنمای آژانس بین‌المللی انرژی اتمی توصیف شده است (به منابع [۸] و [۹] کتابنامه مراجعه شود) که علی‌الرغم عدم مشاهده دی‌سانتریک در سلول‌های موردبررسی، انتظار مشاهده دی‌سانتریک‌های ناشی از ۲۵۰ میلی‌گری پرتوگیری مورد انتظار بوده است.

فرمول دُز-اثر ارائه‌شده در جدول زیر برای تخمین تعداد دی‌سانتریک‌های مربوط به دُز ۲۵۰ میلی‌گری مورداستفاده قرار گرفته است.

	مشاهده‌شده: ۰ دی‌سانتریک در ۵۰۰ سلول (k) **میزان زمینه:** ۰٫۵ دی‌سانتریک در ۵۰۰ سلول **۲۵۰ میلی‌گری:** ۴٫۱ دی‌سانتریک در ۵۰۰ سلول با استفاده از فرمول دُز- اثر $Y = 0.0005 + 1.64 \times 10^{-2}\, Dt + 4.92 \times 10^{-2}\, Dt^2$
	احتمال نسبی (p) مشاهده دی‌سانتریک برای هر دُز طبق فرمول $P(k)=y^k e^{-y}/k!$
دُز صفر	$y= 0.5 \quad k= 0 \quad P= 0.60$
دُز ۲۵۰ میلی‌گری	$y= 4.1 \quad k= 0 \quad P= 0.016$
	$P(y= 0.5)/P(y= 4.1)= 36.6$

بنابراین، احتمال عدم پرتوگیری این مصدوم پرتوی (صفر گری)، ۳۶ برابر بیشتر از احتمال پرتوگیری ۲۵۰ میلی‌گری است. تفاوت احتمال پرتوگیری در شکل ۱ بهتر نشان داده شده است.



شکل ۱- توزیع احتمال پوآسونی برای میانگین‌های مختلف y= ۰/۵ و y= ۴/۱

پیوست ج

(آگاهی‌دهنده)

نمونه برگه اطلاعاتی برای ثبت اطلاعات شکست‌ها

کد لام:

نام شمارش‌کننده:

شماره میکروسکوپ:

تاریخ:

شماره سلول	موقعیت		تعداد قطعه‌های کروموزومی	دی‌سانتریک‌ها	حلقه‌های سانترومردار	آسنتریک اضافه	ملاحظات	فرد تأییدکننده شکست
	X	Y						
۱	۱۰۰٫۱	۱٫۲	۴۶					
۲	۱۰۳٫۴	۱٫۵	۴۷	۱		۱		
۳	۱۰۵٫۴	۱٫۲	۴۹	۲	۱	۲		
۴	۱۱۲٫۴	۱٫۶	--				مضاعف‌شدگی داخلی[1]	
۵	۱۱۲٫۷	۱٫۸	۴۸			۲		
۶	۱۲۰٫۱	۱٫۲	۴۶	۱				
۷	۱۲۲٫۷	۱٫۵	۴۷		۱			
۸	۱۲۴٫۱	۱٫۴	۴۶				تبادل کروماتیدی[2]	
۹	۱۲۶٫۸	۱٫۷	۴۶	۲*			* = یک تری‌سانتریک	
غیره								

1- Endoreduplication
2- Chromatid Exchange

پیوست چ

(آگاهی‌دهنده)

تغییرات اعمال شده دراین استاندارد ملی در مقایسه با استاندارد منبع

چ-۱ کلیات

تغییرات اعمال شده در متن استاندارد منبع در زیربندهای زیر ارائه شده است.

چ- ۱-۱ بخش‌های جایگزین شده

- در این استاندارد معادل عبارت «آزمایشگاه ارائه‌دهنده خدمت» استفاده شده در منبع، از واژه «آزمایشگاه» و معادل عبارت «درخواست‌کننده خدمت» در منبع، از واژه «درخواست‌کننده»، استفاده شده است.

- در این استاندارد معادل واژه «Should» استفاده شده در منبع، از واژه «باید» استفاده شده است.

- جمله اول زیربند ۲-۱۲ منبع، با یادآوری زیربند ۲-۱۲ جایگزین شده است.

- در زیربند ۱۰-۳ منبع، فرمول $D=s^2/y$ با فرمول $D=\sigma^2/y$ جایگزین شده است.

- ردیف پ زیربند ۱۲-۲-۲ منبع، برای درک بهتر اصلاح شده است.

چ- ۱-۲ بخش‌های اضافه شده

- یادآوری بند ۱ اضافه شده است.

- پیوست آگاهی‌دهنده چ اضافه شده است.

چ- ۱-۳ بخش‌های حذف‌شده

- این زیربند کاربرد ندارد.

.

کتاب‌نامه

[1] Barquinero J.F., Barrios L., Caballín M.R., Miró R., Ribas M., Egozcue J. *Biological dosimetry in simulated in vitro partial irradiations*. Int. J. Radiat. Biol. 1997, 71 pp. 435–440

[2] Böhning D. Zero-inflated Poisson models and C.A.M.A.N: *A tutorial Collection of* Evidence. *Biometrical J.* 1998, **40** (7) pp. 833–843

[3] Dolphin G.W. "*Biological dosimetry with particular reference to chromosome aberration analysis. A review of methods", Handling of Radiation Accidents* (Proc. Int. Symp. Vienna, 1969), IAEA, Vienna (1969) 215-224

[4] Deperas S.J., Szluinska M., Deperas-Kaminska M., Edwards A., Lloyd D., Lindholm C. et al. CABAS: *a freely available PC program for fitting calibration curves in chromosome aberration dosimetry. Radiat. Prot. Dosimetry*. 2007, **124** pp. 115–123

[5] Duran A., Barquinero J.F., Caballín M.R., Ribas M., Puig P., Egozcue J. et al. *Suitability of FISH painting techniques for the detection of partial-body irradiations for biological dosimetry. Radiat. Res.* 2002, **157** pp. 461–468

[6] Edwards A.A., & Lloyd D.C. PURROT R.J., *Radiation induced chromosome aberrations and the Poisson distribution. Radiat. Environ. Biophys.* 1979, **16** pp. 89–100

[7] Evans H.J. Chromosome aberrations induced by ionizing radiations. *Int. Rev. Cytol.* 1962, **13** pp. 221–321

[8] IAEA. *Cytogenetic Dosimetry: Application in preparedness for and response to Radiation Emergencies*. Emergency Preparedness and Response Series, 2011

[9] ISO 5725-1, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 1: General principles and definitions

یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۱-۷۴۴۲: سال ۱۳۸۳، درستی (صحت و دقت) روش‌ها و نتایج اندازه‌گیری، قسمت اول: تعاریف و اصول کلی، با استفاده از استاندارد ISO 5725-1: 1994 تدوین شده است.

[10] ISO GUIDE 98: "BIPM/IEC/IFCC/ISO/IUPAC/IUPAP/OIML Guide to the expression of uncertainty in measurement" (1995)

[11] Lambert B., Hansson K ., L indsten J., Sten M. WERELIUS. B., *Bromodeoxyuridine-induced sister chromatid exchanges in human lymphocytes. Hereditas*. 1976, **93** pp. 163–174

[12] Lloyd D.C., Edwards A.A. "*Chromosome aberrations in human lymphocytes: Effect of radiation quality, dose and dose rate*", Radiation-induced Chromosome Damage in Man (ISHIHARA, T. SASAKI, M.S., Eds), Alan R. Liss, New York (1983) 23-49

[13] Lloyd D.C., Edwards A.A., Moquet J.E., Guerrero-Carbaial Y.C. *The role of cytogenetics in early triage of radiation casualties*. Appl. Radiat. Isot. 2000, **52** pp. 1107–1112

[14] Merkle W. *Statistical Methods in Regression and Calibration Analysis of Chromosome Aberration Data. Radiat. Environ. Biophys.* 1983, **21** pp. 217–233

[15] Moorhead P.S. NOWELL, P.C., MELLMANN, W.J., BATTIPS. D.M., HUNGERFORD. D.A., *Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood*. Exp. Cell Res. 1960, **20** pp. 613–616

[16] PAPWORTH DG. Appendix: *Curve fitting by maximum-likelihood. In: Savage RK (ed) Radiationinduced chromosomal aberrations in tradescantia. Radiat Bot* 15:127-140 (1975)

[17] Perry P. WOLFF, S., *New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids. Nature*. 1974, **2SI** pp. 156–158

[18] PROSSER. J.S., MOQUET. J.E., *The effect of blood storage on differential chromosome staining of human lymphocytes. Experientia*. 1983, **39** pp. 778–780
[19] Purrott R.J., Vulpis N., Lloyd D.C. *The influence of incubation temperature on the rate of human lymphocyte proliferation in vitro*. Experientia. 1981, **37** pp. 407–408
[20] PURROTT. R.J., VULPIS, N. LLOYD, D.C., *Chromosome dosimetry. The influence of culture media on the proliferation of irradiated and unirradiated human lymphocytes*. Radiat. Prot. Dosimetry. 1981, **1** pp. 203–208
[21] Rao C.R. CHAKRAVARTI I.M., *Some small sample tests of significance for a Poisson distribution. Biometrics*. 1956, **12** pp. 264–282
[22] Sasaki M.S. MIYATA, H., *Biological dosimetry in atomic bomb survivors*. Nature. 1968, **220** pp. 1189–1193
[23] Savage J.R.K. *Sites of radiation induced chromosome exchanges*. Current Topics in Radiation Research. 1970, **6** pp. 129–194
[24] Savage J.R.K. *Classification and relationships of induced chromosomal structural changes*. J. Med. Genet. 1976, **13** pp. 103–122