
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 dards

(<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/a7e8e8e7-d58c-45af-b58e-49b7c3873f2a/iso-20046-2019>)
Radiological protection — Performance criteria for laboratories using Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) translocation assay for assessment of exposure to ionizing radiation

ISO 20046:2019

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/a7e8e8e7-d58c-45af-b58e-49b7c3873f2a/iso-20046-2019>



iTeh Standards
(<https://standards.iteh.ai>)
Document Preview

ISO 20046:2019

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/a7e8e8e7-d58c-45af-b58e-49b7c3873f2a/iso-20046-2019>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2019

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office

Case postale 401 • Ch. de Blandonnet 8

CH-1214 Vernier, Genève

Tél.: +41 22 749 01 11

E-mail: copyright@iso.org

Web: www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos	v
Introduction	vi
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Analyse des translocations par FISH	5
4.1 Généralités.....	5
4.2 Culture et fixation.....	5
4.3 Types de coloration.....	6
4.4 Dénombrement.....	6
4.5 Exigences générales relatives au laboratoire.....	7
5 Responsabilité du demandeur	7
6 Responsabilité du laboratoire	7
6.1 Mise en place et maintenance d'un programme d'assurance de la qualité (AQ).....	7
6.2 Responsabilité pendant le service.....	8
7 Confidentialité des informations personnelles	9
7.1 Aperçu général.....	9
7.2 Applications du principe de confidentialité.....	9
7.2.1 Délégation de responsabilités au sein du laboratoire.....	9
7.2.2 Demandes d'analyse.....	9
7.2.3 Transmission d'informations confidentielles.....	9
7.2.4 Anonymat des échantillons.....	9
7.2.5 Consignation des résultats.....	10
7.2.6 Stockage des données et résultats.....	10
8 Exigences de sécurité relatives aux laboratoires	10
8.1 Aperçu général.....	10
8.2 Exigences de sécurité microbiologique.....	10
8.3 Exigences de sécurité chimique.....	10
8.4 Exigences de sécurité optique.....	11
8.5 Plan de sécurité.....	12
9 Traitement des échantillons	12
9.1 Culture et coloration.....	12
9.2 Dénombrement.....	13
9.2.1 Critères de dénombrement.....	13
9.2.2 Conversion des fréquences de translocation en équivalence génomique.....	13
10 Fréquences de base des translocations	14
11 Courbes de calibration	15
11.1 Sources de calibration.....	15
11.2 Établissement de la ou des courbes de calibration.....	15
12 Critères pour convertir une fréquence d'aberration mesurée en une estimation de dose absorbée	17
12.1 Détermination de l'estimation de dose absorbée au corps entier et des limites de l'intervalle de confiance.....	17
12.1.1 Généralités.....	17
12.1.2 Comparaison avec la fréquence de base: caractérisation de la dose minimale détectable.....	17
12.1.3 Limites de l'intervalle de confiance pour le nombre de translocations.....	21
12.1.4 Ajustement pour la fréquence de base.....	22
12.1.5 Calcul de la dose absorbée.....	23

12.1.6	Calcul de l'incertitude sur la dose absorbée	23
12.1.7	Cas d'exposition aiguë et non aiguë	24
12.1.8	Autres scénarios d'exposition	24
13	Consignation des résultats	24
13.1	Généralités	24
13.2	Contenu du rapport (voir Annexe C pour découvrir un format normalisé)	25
13.3	Interprétation des résultats	25
14	Assurance et contrôle de la qualité	26
14.1	Aperçu général	26
14.2	Exigences spécifiques	26
14.2.1	Généralités	26
14.2.2	Contrôles de performance par comparaisons interlaboratoires	26
14.2.3	Contrôle de la qualification des opérateurs	27
14.2.4	Contrôle de performance du transport des échantillons	27
14.2.5	Contrôle de performance de l'intégrité des échantillons par le laboratoire de service	27
14.2.6	Contrôle de performance de l'appareillage	27
14.2.7	Contrôle de performance des protocoles expérimentaux	28
14.2.8	Contrôle de performance de la qualité de dénombrement	28
14.2.9	Contrôle de performance du rapport d'expertise	28
Annexe A	(informative) Exemples d'instructions pour le demandeur	29
Annexe B	(informative) Exemple de questionnaire	31
Annexe C	(informative) Exemple de rapport	33
Annexe D	(informative) Tableau type pour le dénombrement des aberrations chromosomiques peintes	34
Annexe E	(informative) Ajustement de la courbe dose-effet par la méthode du maximum de vraisemblance et calcul de l'erreur d'estimation de dose absorbée	36
Annexe F	(informative) Processus d'estimation dosimétrique	37
Bibliographie	43

Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir www.iso.org/directives).

L'attention est attirée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir www.iso.org/brevets).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la nature volontaire des normes, la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir www.iso.org/avant-propos.

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 85, *Énergie nucléaire, technologies nucléaires, et radioprotection*, sous-comité SC 2, *Radioprotection*.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse www.iso.org/fr/members.html.

Introduction

L'objectif du présent document est de définir l'utilisation de l'analyse des translocations des chromosomes visualisées par hybridation in situ fluorescente (FISH) sur les lymphocytes du sang périphérique humain qui ont été exposés à des rayonnements ionisants. La dosimétrie biologique, fondée sur l'étude des aberrations chromosomiques, essentiellement le dénombrement des dicentriques, est devenue un élément de routine pour l'estimation dosimétrique en cas de surexposition accidentelle. Les dicentriques, cependant, disparaissent avec le temps après l'exposition, ce qui rend ce dénombrement utile uniquement à court terme après l'exposition. Les translocations sont toutefois plus stables, ce qui permet de faire des estimations dosimétriques longtemps après l'exposition ou après des expositions prolongées.

Le présent document fournit des lignes directrices pour effectuer l'analyse des translocations par FISH pour l'estimation dosimétrique en utilisant des modes opératoires documentés et validés. Il décrit également les exigences minimales pour évaluer la fréquence de translocation dans les lymphocytes du sang périphérique, en définissant précisément les aspects techniques de la coloration des chromosomes (nombre de chromosomes et types de peinture), de la sélection des types d'aberrations et de cellules, du dénombrement des aberrations, de la conversion de la fréquence d'aberration en dose, de l'analyse statistique, des problèmes liés aux expositions hétérogènes, chroniques ou anciennes et de l'extrapolation au génome complet. L'estimation dosimétrique à l'aide de l'analyse FISH est pertinente pour la prise en charge médicale, la radioprotection, le suivi dosimétrique et les exigences médico-légales.

Une partie de l'information contenue dans le présent document est incluse dans d'autres lignes directrices et publications scientifiques internationales et principalement dans la série de rapports techniques de l'Agence Internationale de l'Énergie Atomique (AIEA) sur la dosimétrie biologique. Cependant, le présent document développe et normalise l'assurance et le contrôle de la qualité ainsi que l'évaluation des performances.

Document Preview

[ISO 20046:2019](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/a7e8e8e7-d58c-45af-b58e-49b7c3873f2a/iso-20046-2019)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/a7e8e8e7-d58c-45af-b58e-49b7c3873f2a/iso-20046-2019>

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

1 Domaine d'application

L'objectif du présent document est de fournir des critères pour l'assurance de la qualité (AQ), le contrôle de la qualité (CQ) et l'évaluation des performances des laboratoires de service pratiquant la dosimétrie biologique par cytogénétique.

Le présent document aborde:

- a) les responsabilités du demandeur et du laboratoire;
- b) la confidentialité des informations personnelles pour le demandeur et le laboratoire;
- c) les exigences de sécurité du laboratoire;
- d) le traitement des échantillons, la culture, la coloration et le dénombrement, y compris les critères de dénombrement pour l'analyse des translocations par FISH;
- e) les sources de calibration et les gammes de doses de calibration utiles pour établir les courbes dose-effet de référence qui contribuent à l'estimation dosimétrique à partir de la fréquence des aberrations chromosomiques et la limite de détection;
- f) la procédure de dénombrement des translocations colorées par FISH utilisée pour l'évaluation de l'exposition;
- g) les critères pour convertir une fréquence mesurée d'aberrations en une estimation de dose absorbée (également dénommée «estimation dosimétrique»);
- h) la présentation des résultats;
- i) l'AQ et le CQ;
- j) les [Annexes A](#) à [F](#) contenant des exemples d'instructions pour le traitement du prélèvement par le demandeur, de questionnaire, de tableau type pour le dénombrement des aberrations chromosomiques, de rapport et d'ajustement de la courbe dose-effet par la méthode du maximum de vraisemblance et de calcul de l'incertitude sur l'estimation de la dose absorbée.

2 Références normatives

Le présent document ne contient aucune référence normative.

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes:

— ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>

— IEC Electropedia: disponible à l'adresse <https://www.electropedia.org/>

3.1

dose absorbée

D

quantité d'énergie de rayonnement ionisant impartie par unité de masse d'un matériau spécifié

3.2

acentrique

fragment chromosomique terminal ou interstitiel de taille variable, dépourvu de centromère, habituellement considéré comme un acentrique en excès lorsqu'il est formé indépendamment d'un dicentrique ou d'un anneau centrique

3.3

anticoagulant

substance chimique qui empêche le sang de coaguler

3.4

taux/fréquence de base

fréquence spontanée (ou nombre) d'aberrations chromosomiques dénombrées sur une population générale

3.5

couche leuco-plaquettaire

couche d'un échantillon de sang anticoagulé après centrifugation qui contient la plupart des globules blancs

3.6

courbe de calibration

description graphique ou mathématique de la relation effet-dose construite à partir de l'irradiation in vitro d'échantillons de sang à des doses absorbées connues

Note 1 à l'article: La courbe est utilisée pour déterminer, par interpolation, la dose de rayonnement absorbée par un individu potentiellement exposé.

<https://standards.iteh.ai/>

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/a7e8e8e7-d58c-45af-b58e-49b7c3873f2a/iso-20046-2019>

3.7

centromère

région spécialisée sous forme d'une constriction d'un chromosome, qui apparaît pendant la mitose et réunit les paires chromatidiennes

3.8

chromatide

un des deux brins d'un chromosome dupliqué qui sont réunis par un seul centromère et se séparent pendant la division cellulaire pour s'individualiser comme des chromosomes

3.9

chromosome

structure porteuse de l'information génétique, constituée de pelotes d'ADN et de protéines qui se condensent pendant la division nucléaire pour former des éléments de forme caractéristique

3.10

aberration chromosomique

modification de la structure normale d'un chromosome impliquant le même locus sur les deux chromatides d'un même chromosome observé en métaphase

3.11

colcémide

composé alcaloïde qui inhibe la formation du fuseau pendant la division cellulaire

Note 1 à l'article: Il est utilisé pour collecter un grand nombre de cellules en métaphase en les empêchant de progresser en anaphase.

3.12**aberration complexe**

aberration impliquant trois cassures ou plus dans au moins deux chromosomes et induite de manière caractéristique après une exposition à un rayonnement ionisant dense ou à des doses élevées de rayonnement à faible densité d'ionisation

3.13**intervalle de confiance**

plage dans laquelle se situe la vraie valeur d'une grandeur statistique avec une probabilité spécifiée

3.14**covariance**

mesure de la corrélation de la variance entre (au moins) deux ensembles de données ou paramètres dépendants

3.15**seuil de décision**

valeur de l'estimateur du mesurande telle que, quand le résultat du mesurage réel utilisant une procédure de mesure donnée d'un mesurande quantifiant le phénomène physique lui est supérieur, on décide que le phénomène physique est présent

Note 1 à l'article: Le seuil de décision est défini de manière que, dans le cas où le résultat du mesurage, y , dépasse le seuil de décision, y^* , la probabilité que la valeur vraie du mesurande soit nulle est inférieure ou égale à la probabilité choisie, α .

Note 2 à l'article: Si le résultat, y , est inférieur au seuil de décision, y^* , le résultat ne peut pas être attribué à l'effet physique, mais il ne peut pas être conclu qu'il est absent.

3.16**limite de détection**

plus petite valeur vraie du mesurande qui garantit une probabilité spécifiée qui soit détectable par la procédure de mesure

Note 1 à l'article: Avec le seuil de décision (3.15), la limite de détection est la plus petite valeur vraie du mesurande pour laquelle la probabilité de décider de façon erronée que la valeur vraie du mesurande est nulle est égale à une valeur spécifiée, β , quand, en réalité, la valeur vraie du mesurande n'est pas nulle.

3.17**dicentrique**

chromosome aberrant portant deux centromères résultant de la jonction des morceaux de deux chromosomes coupés (généralement accompagné d'un fragment acentrique)

3.18**hybridation in situ fluorescente****FISH**

technique utilisant des séquences spécifiques d'ADN comme sondes de régions particulières du génome, permettant de surligner ou «peindre» des régions chromosomiques en différentes couleurs par la fixation de divers fluorochromes

3.19**fluorochrome**

molécules fluorescentes lorsqu'elles sont excitées de manière appropriée

Note 1 à l'article: Les fluorochromes sont utilisés pour la cytogénétique FISH pour mettre en évidence des régions chromosomiques spécifiques.

3.20**équivalent génome**

fréquence de translocations qui seraient observées si tous les chromosomes étaient peints, calculé à partir du nombre de translocations détectées sur un nombre limité de chromosomes peints

3.21

insertion

réarrangement de chromosomes dans lequel un morceau de chromosome a été inséré dans un autre chromosome

3.22

interphase

période d'un cycle cellulaire entre deux divisions mitotiques

3.23

transfert linéique d'énergie

TLE

énergie de rayonnement déposée par unité de longueur de trajectoire parcourue à travers un matériau biologique

3.24

métaphase

étape de la mitose au cours de laquelle la membrane nucléaire est dissoute, les chromosomes condensés au maximum et alignés pour la division

3.25

protocole portant sur l'identification des aberrations et sur la terminologie associée à leur classification

PAINT

terminologie utilisée dans l'analyse FISH pour décrire les aberrations chromosomiques

3.26

fidélité

concept utilisé pour décrire la dispersion des mesures par rapport à une valeur moyenne ou une tendance centrale

3.27

essai d'aptitude

évaluation de la performance d'un participant par rapport à des critères préétablis au moyen de comparaisons interlaboratoires

3.28

assurance de la qualité

AQ

actions planifiées et systématiques nécessaires pour attester qu'un processus, un mesurage ou un service satisfait aux exigences de qualité définies

3.29

contrôle de la qualité

CQ

partie de l'assurance de la qualité qui a pour objectif de vérifier que les systèmes et les composants sont en conformité avec les exigences prédéfinies

3.30

translocation radio-induite

parmi les translocations observées, celles qui peuvent être attribuées à une irradiation, ce qui exclut donc les translocations induites par d'autres sources (par exemple l'âge, les facteurs liés au mode de vie)

3.31

anneau

chromosome circulaire aberrant résultant de la jonction de deux points de cassure d'un même chromosome

Note 1 à l'article: Les anneaux peuvent être centrés ou acentrés.

3.32**laboratoire de service**

laboratoire pratiquant des expertises par dosimétrie biologique

3.33**aberration stable**

aberration qui ne conduit pas à la mort de la cellule et qui peut être transmise aux cellules filles (par exemple, simple translocation)

3.34**cellule stable**

cellule sans aberrations instables, qui peut être entièrement intacte ou contenir uniquement des aberrations de type stable et qui peut survivre à une division

3.35**translocation**

aberration chromosomique stable dans laquelle des parties d'au moins deux chromosomes sont échangées

3.36**aberration instable**

aberration qui peut conduire à la mort de la cellule (par exemple, dicentriques/anneaux centriques/fragments acentriques)

4 Analyse des translocations par FISH**4.1 Généralités** (<https://standards.iteh.ai>)

La fréquence des aberrations chromosomiques observées en métaphase dans les lymphocytes du sang périphérique humain en culture est utilisée pour estimer la dose absorbée après une suspicion d'exposition aux rayonnements ionisants. Le présent document se concentre sur l'évaluation rétrospective des expositions survenues par le passé ou des expositions prolongées pour lesquelles le dénombrement des dicentriques (voir ISO 19238) et l'essai de micronoyaux avec blocage de la cytotodiérèse (voir ISO 17099) ne sont pas applicables en raison de la diminution de ce type de dommages au fil du temps. Les aberrations à utiliser sont les translocations et les insertions dans des cellules stables. Pour l'application du présent document, le laboratoire de service doit choisir le type d'aberrations à analyser dans l'objectif de fournir des estimations de doses absorbées. Il doit être cohérent tout au long de l'analyse.

Il est bien établi que les fréquences de translocation de base chez les individus varient en fonction de l'âge en raison de différents facteurs confondants (à savoir l'état nutritionnel, les expositions génotoxiques, les facteurs liés au mode de vie, la mauvaise ségrégation des chromosomes sexuels). Il s'agit d'une information clé à prendre en compte pour les estimations de doses absorbées à l'aide d'une analyse des translocations.

Les aberrations chromosomiques sont ci-après désignées «translocations», mais peuvent inclure des insertions si le laboratoire de service le décide.

4.2 Culture et fixation

De la même manière que dans l'ISO 19238, les lymphocytes sont cultivés par une méthode qui maximise les métaphases de première division. Cette méthode nécessite du sang total ou des lymphocytes isolés des autres éléments du sang, incubés dans un milieu de culture contenant un mitogène qui stimule le cycle de mitose des lymphocytes. Pour l'analyse des translocations, un contrôle du cycle cellulaire est recommandé. Un agent mitotique, la colcémide, est ajouté pour arrêter la division des lymphocytes en métaphase et ainsi les prélever. La durée de la culture et la période d'incubation avec l'agent bloquant sont optimisées pour assurer un index mitotique adéquat.

Les métaphases sont isolées à l'aide d'une solution hypotonique et fixées dans un mélange de méthanol et d'acide acétique. Les cellules fixées sont déposées sur des lames de microscope et colorées. Le protocole exact de la culture des cellules, du recueil des métaphases et de leur coloration, qui est employé par le laboratoire de service, doit être clairement formalisé (voir l'[Article 9](#)).

4.3 Types de coloration

La coloration FISH de chromosomes entiers doit être effectuée et peut impliquer une peinture d'une seule couleur pour toutes les paires de chromosomes sélectionnés ou deux ou trois couleurs différentes, une pour chaque paire de chromosomes sélectionnés. La peinture de trois des plus gros chromosomes couvre entre 20 % à 24 % environ de la teneur totale en ADN humain, mais il existe de nombreux choix quant au nombre de fluorochromes et aux chromosomes qui pourraient être sélectionnés pour la peinture. Il est recommandé de faire en sorte que les chromosomes sélectionnés couvrent une grande quantité d'ADN.

Certains exemples sont décrits ci-après:

- a) peinture d'une seule couleur de trois paires de chromosomes [par exemple, les paires de chromosomes 1, 4 et 8 toutes peintes avec du FITC (vert)];
- b) peinture en trois couleurs différentes de trois paires de chromosomes [par exemple, la paire de chromosomes 1 peinte avec du Texas Red (rouge), la paire de chromosomes 2 peinte avec du FITC (vert) et la paire de chromosomes 4 peinte avec du FITC et du Texas Red (jaune)].

Il est possible d'augmenter le nombre de paires de chromosomes peints pour analyser une proportion plus élevée du génome, mais dans la plupart des cas la coloration de quelques paires de chromosomes est une méthode efficace.

Il convient de contre-colorer tous les chromosomes avec un colorant d'ADN fluorescent tel que le DAPI (diamidino-4',6-phénylindole-2). L'utilisation d'une sonde pan-centromérique peut également être ajoutée, mais n'est pas nécessaire pour l'analyse des translocations, lorsque les centromères peuvent être clairement identifiés.

4.4 Dénombrement

Les lames de microscope portant les cellules colorées sont méthodiquement parcourues afin d'identifier les métaphases adéquates. La fréquence de translocations dénombrées dans un nombre approprié de métaphases est convertie en une estimation de dose de rayonnement par référence à des données de calibration.

Il existe de nombreux types d'aberrations chromosomiques visualisables grâce au marquage FISH de chromosomes entiers, y compris stables et instables, qu'il convient d'enregistrer pendant la procédure de dénombrement. Pour l'application du présent document, l'accent est mis sur le dénombrement des translocations dans des cellules stables afin que cette méthode puisse être appliquée à l'analyse rétrospective des expositions survenues par le passé. Par conséquent, il est recommandé d'enregistrer les aberrations instables détectées dans les chromosomes contre-colorés afin de déterminer si la translocation se produit dans une cellule stable ou instable. Pour éviter de ralentir le dénombrement, l'analyse de tous les chromosomes contre-colorés peut être effectuée uniquement dans des cellules présentant des aberrations stables visibles dans les chromosomes peints.

Le laboratoire de service doit choisir les paires de chromosomes et le type d'aberrations à analyser dans l'objectif de fournir des estimations de dose absorbée. Il doit être cohérent tout au long de l'analyse.

Il convient que les métaphases sélectionnées pour le dénombrement soient bien étalées et paraissent complètes.

Plusieurs systèmes de classification des aberrations sont utilisés actuellement (par exemple PAINT) [3]. Pour l'application du présent document, le laboratoire de service doit choisir le type de système de dénombrement qu'il souhaite utiliser. Il doit être cohérent tout au long de l'analyse. Il est recommandé d'enregistrer tous les dommages visibles, mais seules les translocations dans les cellules stables

doivent être comptabilisées pour générer la courbe de calibration et fournir des estimations de dose absorbée. Les informations sur les fréquences de toutes les aberrations observées permettent de mieux interpréter les conditions d'exposition.

4.5 Exigences générales relatives au laboratoire

Le laboratoire doit être pourvu de l'équipement de laboratoire standard requis pour la culture lymphocytaire, le traitement des cellules, la préparation de la coloration des lames et le dénombrement des cellules par microscopie à fluorescence. Il convient que le laboratoire conserve les documents d'AQ, y compris ceux décrivant l'étalonnage périodique et l'entretien de l'équipement utilisé pour la culture cellulaire, si nécessaire.

5 Responsabilité du demandeur

Le présent article inclut des points qui ne sont pas contrôlés par le laboratoire. Avant le prélèvement de sang, il convient qu'une coordination soit établie entre le demandeur et le laboratoire de service. Il convient d'expliquer au demandeur les conditions opératoires, par exemple au moyen d'une feuille d'instructions normalisée telle que celle présentée en [Annexe A](#). Les points essentiels sont les suivants:

- a) le sang doit être prélevé à l'aide d'un dispositif contenant de l'héparine de lithium ou de sodium comme anticoagulant, et il aura été envoyé ou décrit par le laboratoire d'analyse;
- b) le sang doit être récolté (idéalement 10 ml environ), étiqueté de façon fiable et sans ambiguïté, conservé à température ambiante (entre 6 °C et 30 °C environ) et envoyé au laboratoire dès que possible (idéalement dans les 48 h);
- c) des précautions doivent être prises pour assurer l'intégrité du contenant utilisé pour le transport et éviter les dommages pendant l'expédition. Il convient de conserver les échantillons de sang entre 6 °C et 30 °C pendant le transport. Il convient d'inclure un enregistreur de température afin de surveiller la température pendant l'expédition. L'emballage et l'étiquetage doivent être conformes aux réglementations nationales et internationales. En cas de transport aérien, un dosimètre physique doit être inclus pour vérifier si l'échantillon a été irradié pendant le transit;
- d) un questionnaire fourni par le laboratoire doit être rempli avec précision et renvoyé rapidement. Il doit notamment énumérer les expositions antérieures à des rayonnements médicaux ou professionnels (voir [Annexe B](#)). La précision de la dosimétrie biologique est limitée pour les patients qui ont déjà été exposés à des rayonnements médicaux non déclarés ou dont les caractéristiques ne sont pas fournies avec précision;
- e) le laboratoire doit être alerté en cas d'échantillons biologiquement contaminés et/ou infectieux.

6 Responsabilité du laboratoire

6.1 Mise en place et maintenance d'un programme d'assurance de la qualité (AQ)

Le laboratoire doit établir et tenir à jour un programme d'assurance de la qualité (AQ) (voir l'[Article 14](#)) qui couvre tous les aspects du service. Il convient que le programme AQ porte sur les points suivants:

- a) le programme AQ du laboratoire doit inclure des contrôles internes périodiques du fonctionnement de l'équipement, de l'adéquation des réactifs ainsi que différents contrôles de performance (à savoir comparaisons intralaboratoires, qualifications du manipulateur, protocole expérimental, dénombrement, estimations de la dose absorbée, génération de rapports, etc.);
- b) le programme AQ du laboratoire doit inclure des contrôles externes périodiques du fonctionnement du laboratoire. Les audits externes doivent inclure une revue de la documentation décrivant le fonctionnement de l'équipement, de l'adéquation des réactifs et des différents contrôles de performance (à savoir comparaisons intralaboratoires, qualifications du manipulateur, intégrité lors du transport des échantillons, etc.) du laboratoire de service.

Le laboratoire doit établir la fréquence de ces contrôles d'assurance de la qualité.

6.2 Responsabilité pendant le service

Le laboratoire de service doit établir les recommandations, modes opératoires et méthodes de présentation des résultats nécessaires pour fournir une estimation de la dose absorbée par analyse cytogénétique en réponse à une demande de service. Les activités de service doivent porter sur les points suivants:

- a) le laboratoire doit disposer d'une documentation, revue et signée par une personne désignée et compétente, comportant les informations suivantes:
 - 1) une feuille d'instructions à envoyer au demandeur, décrivant les procédures d'expédition (voir [Annexe A](#));
 - 2) un questionnaire qui doit confirmer le consentement du patient et apporter des informations sur l'exposition globale ou partielle du corps, la source et la nature du rayonnement, les circonstances de l'exposition, le lieu de l'exposition (pays, ville, entreprise, etc.), la date et l'heure de l'exposition, les expositions antérieures aux rayonnements ionisants, qu'il s'agisse d'expositions professionnelles ou médicales, la prise de médicaments, les infections, la consommation de tabac et toute exposition significative à d'autres agents génotoxiques (tels que des solvants organiques ou des métaux lourds) (voir [Annexe B](#));
 - 3) les modes opératoires, étape par étape, pour le traitement de l'échantillon de sang depuis sa réception jusqu'à la fourniture de la dose absorbée;
- b) si nécessaire, un dispositif de prélèvement sanguin (10 ml) contenant de l'héparine de lithium ou de sodium comme anticoagulant doit être envoyé au demandeur, incluant également un emballage correctement étiqueté et adressé pour le retour de l'échantillon au laboratoire de service. L'emballage doit être conforme aux règlements nationaux et/ou internationaux pour le transfert d'échantillons biologiques potentiellement infectieux (voir [14.2.4](#));
- c) dès sa réception, l'échantillon de sang doit être traité de la manière suivante:
 - 1) renseigner les informations sur la réception de l'échantillon de sang (date, heure, nom de la personne qui réceptionne le colis);
 - 2) coder l'échantillon de sang pour permettre de garantir l'anonymat;
 - 3) renseigner le lieu de conservation jusqu'à la mise en culture;
 - 4) établir des cultures en double dès que possible et renseigner la date, l'heure et le nom du manipulateur;
 - 5) renseigner tous les réactifs utilisés pour la culture, en indiquant les numéros de lots le cas échéant;
 - 6) décrire l'ajout des réactifs et la fin de la culture (date, heure et nom du manipulateur);
 - 7) décrire la conservation à court et long termes de l'échantillon jusqu'à la préparation des lames;
 - 8) décrire les codes des lames, le nombre de lames et le lieu de conservation;
 - 9) décrire les résultats obtenus pour le dénombrement;
 - 10) conserver les lames et les documents concernant l'analyse dans un endroit adapté pendant une durée définie par le laboratoire pour une possible nouvelle évaluation médico-légale du cas;
- d) le laboratoire de service doit interpréter les résultats et préparer des rapports (voir [Annexe C](#));
- e) le laboratoire de service doit entretenir un dialogue avec le demandeur, en revoyant l'ordre de priorité des analyses lorsque cela est nécessaire et en communiquant les résultats au demandeur.