

中华人民共和国卫生行业标准

用稳定性染色体畸变估算 职业受照者剂量的方法

WS/T 204—2001

Method of dose estimated using stable chromosome
aberration for occupational irradiated subjects

1 范围

本标准规定了稳定性染色体畸变分析估算职业受照者剂量的方法。

本标准限于用 G-显带法或用染色体核型。

本标准适用于慢性职业受照人群的剂量估算,也适用于早先事故受照者的剂量估算,但不适用于近期事故性受照者生物剂量估算。

2 定义

本标准采用下列定义

2.1 职业照射 occupational exposure

除了国家法规,标准所排除的照射以及按规定已予以豁免的实践或源产生的照射以外,工作人员在其工作过程中所受的照射。

2.2 G-显带 G-bands by trypsin using Giemsa,GTG-显带

用蛋白水解酶(胰蛋白酶)将染色体消化后,得到深浅颜色不同和宽度不等的特有带型。

2.3 生物剂量计 biological dosimeter

用以估算受照剂量的生物体系,这一生物体系受到照射后的反应与受照剂量之间存在着某种定量关系,从而可用来推定受照的剂量。

2.4 剂量-效应关系曲线 dose-response curve

当机体受照后引起的反应与受照剂量存在某种定量关系,用适当的数学模式表达,以作出相应的刻度曲线。

3 剂量-效应曲线的建立

3.1 对供血者要求

- 3.1.1 男女均可,可各选一人或只选一人;
- 3.1.2 年龄 18~50 岁;
- 3.1.3 无肿瘤病史;
- 3.1.4 无慢性病史;
- 3.1.5 无接触有毒有害物质史;
- 3.1.6 未接受过大剂量的放射诊断、治疗史;
- 3.1.7 无烟酒嗜好。

1) 将带有标本的载片放 60℃ 烤箱 4 h;用胰酶或胰酶-EDTA 消化;Giemsa 染色。

WS/T 204—2001

3.2 照射条件

- 3.2.1 物理剂量准确；
 3.2.2 样品受照均匀；
 3.2.3 温度控制在 $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ；
 3.2.4 剂量范围 $0.1 \sim 5.0 \text{ Gy}$ ；
 3.2.5 剂量点 7 个左右，低于 0.5 Gy 剂量点应选 2~3 个；
 3.2.6 照后即置于 37°C 恒温箱内，静置 90~120 min 后接种培养。

3.3 培养方法

微量全血培养法：用 0.5 mL 全血，在无菌条件下接种入 pH 为 $6.8 \sim 7.2$ 的含有适量植物血细胞凝集素(PHA)、抗生素、牛血清的 5 mL RPMI-1640 培养体系，置 37°C 恒温箱培养 52 h，终止培养前 2~6 h 或培养开始时加入适量秋水仙素。各剂量点培养瓶数，视剂量大小而定，一般是低剂量点培养数适当增加。

3.4 标本制备

培养终止后收获细胞

- 3.4.1 低渗：小心去上清液(切勿使沉淀的细胞松动)转移到 10 mL 锥形刻度离心管中，加 0.075 mol/L 氯化钾液 10 mL ，放 37°C 水浴锅中低渗 30 min；
 3.4.2 预固定：加 0.5 mL 固定液(甲醇：冰乙酸=3：1)混合， 1400 rpm (转数/分)离心 7 min；
 3.4.3 固定：去上清液，常温下固定 20 min，离心。反复二次；
 3.4.4 去上清液，离心，加固定液，混匀，放置 4°C 冰箱 16 h 以上；
 3.4.5 次日再离心，去上清液，加适量新配置固定液，混匀；
 3.4.6 制片：将适量细胞混悬液立即滴入预温 37°C 的载玻片上，Giemsa 染色。

3.5 镜检要求

- 3.5.1 盲片分析；
 3.5.2 分析者应经严格训练，能较熟练识别各种类型畸变；
 3.5.3 阅片必须按一定的规范，先在 $20\times$ 镜下寻找标准细胞，然后在油镜下计数和分析；
 3.5.4 作剂量-效应曲线的各剂量点分析细胞的计算¹⁾，一般是先分析 100 个细胞后按式(1)计算：

$$N = 96(1 - P)/P \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中：N——需要分析的细胞；

P——畸变细胞率。

3.5.5 分析细胞标准

- 3.5.5.1 细胞完整，染色体数目为 45 ± 1 ；
 3.5.5.2 分散良好，各染色体可清楚辨认；
 3.5.5.3 长短适中；
 3.5.6 发现有畸变或怀疑有异常时，记下 X-Y 轴坐标，同时一定征得第二、第三人确认，进行拍照，作进一步分析。

3.6 回归方程拟合

3.6.1 在算术坐标纸上，将各剂量点所观察到的双着丝粒数作散点图。若呈直线趋势，拟用直线模式： $Y = c + \alpha D$ ；若呈抛物线趋势，拟用二次多项式模式见式(2)。

$$Y = c + \alpha D + \beta D^2 \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中：Y——双着丝率；

c——自发双着丝率；

1) 以分析双着或多着丝粒畸变。

α, β ——分别为一次和二次击中诱发的畸变系数；

D ——照射剂量, Gy。

3.6.2 通过解方程式或用微机计算回归系数。

3.6.3 检验回归系数的显著性和曲线的拟合度。

对于低 LET 辐射, 多采用二次多项式模式, 而高 LET 辐射, 宜采用直线模式。

4 剂量估算注意事项

4.1 培养方法、标本制备和各类畸变判定标准均应与建立剂量-效应刻度曲线相同；

4.2 可作群体剂量估算；若对个体剂量估算分析细胞数不得少于 100 个中期细胞¹⁾。

4.3 病例分析时, 应结合放射工龄、职业史和临床表现等；

4.4 剂量估算除给出均值外, 同时应给出 95% 可信限范围。

1) 以 G-显带法, 分析相互易位。从理论和大量的实验已经表明: 辐射诱发易位和双着丝粒具有相同的频率。易位率可在体内受照后数十年基本恒定。

WS/T 204—2001

附录 A

(提示的附录)

稳定性染色体畸变分析在估算职业受照者剂量中的意义

大量的实验已经表明:电离辐射可以引起外周血淋巴细胞染色体结构重排,随着时间的推移,有的结构重排经死亡、丢失而逐渐减少,这类重排叫非稳定性染色体畸变,如双着丝粒、环状染色体和无着丝粒畸变等。然而另一类重排,如相互易位、倒位、缺失和插入等叫稳定性染色体畸变。这类畸变随累积剂量增加而增加,而畸变率可在体内数十年保持相对恒定。特别是近年来,荧光原位杂交方法的建立,大大促进和深化了这一领域,尤其是相互易位在稳定性染色体畸变占有非常大的份额,且与受照剂量有明确的关系。

稳定性染色体畸变类型:

a) 相互易位 reciprocal translocation

二条染色体各发生一处断裂,相互交换片段,形成二条结构重排的新染色体。

易位 translocation

二条染色体各发生一处断裂,仅有一处片段接到另一条染色体上,另一片段未发生连接形成无着丝粒断片和一染色体部分缺失或另一片段丢失只留下一染色体部分缺失。

b) 倒位 inversion

一条染色体同时发生二处断裂,其断裂片段作 180° 颠倒后,再连接起来形成一新染色体,若倒位片段仅在染色体的长臂或短臂内,不累及着丝粒时,叫臂内倒位(paracentric inversion),若倒位片段累及着丝粒时,叫臂间倒位(pericentric inversion)。

c) 缺失 deletion

一条染色体部分丢失但不累及着丝粒。

d) 插入 insertion

一条或二条染色体臂内发生二处断裂,其断裂片段插入到同一或另一染色体的断裂处。

附录 B

(提示的附录)

剂量推算及应用实例

B1 剂量估算推荐公式见式(B1)

$$H = [(Y - K)/\alpha]Q \dots\dots\dots(B1)$$

式中: H ——剂量, Gy;

Y ——受检者易位率(畸变/细胞);

K ——自发(本底)易位率(畸变/细胞);

α ——离体照射时建立的二次多项式方程中的线性项系数;

Q ——辐射品质因子。

B2 应用实例

某医院一放射科医生,1949年从事放射性诊断工作。用 G 显带法分析其外周血淋巴细胞中 100 个中期相,出现 5 个易位,本底易位率为 0.006 畸变/细胞。(α 值为 0.03 易位/细胞·Gy, $Q=1$)

易位率为每细胞 0.05,标准误为每细胞 0.022。

WS/T 204—2001

95%可信限上限值为 0.093。

95%可信限下限值为 0.007。

代入式(B1)求出其相应剂量为 1.47(2.9~0.03)Gy。

附 录 C
(提示的附录)
显微照相技术

这是从事细胞遗传学工作过程中的一个很重要的部分,在有条件的单位都应建立这套装置,包括照相显微镜、放大机、上光机、显定影液及有关设备等全套暗室装置。

胶片可用 12°缩微片,相纸选用放大纸 3 号或 4 号,滤片选用深绿色。

对底片要求:

- a) 反差大;
 - b) 画面不得小于纸面积的 2/3;
 - c) 画面清晰,最好能附淋巴细胞;
 - d) 画面与玻片上所照细胞方向一致;
 - e) 记下 X-Y 轴坐标位置。
-