



Autoridad Regulatoria Nuclear
PRESIDENCIA DE LA NACIÓN

www.arn.gob.ar

APLICABILIDAD DEL ENSAYO DE MICRONÚCLEOS - DOSÍMETRO BIOLÓGICO EN ESCENARIOS CON VICTIMAS MÚLTIPLES

Mayra Deminge

www.arn.gov.ar



S.A.R.
Sociedad Argentina
de Radioprotección

APLICABILIDAD DEL ENSAYO DE MICRONÚCLEOS - DOSÍMETRO BIOLÓGICO EN ESCENARIOS CON VICTIMAS MÚLTIPLES

La Dosimetría Biológica (DB) permite estimar dosis absorbida en individuos expuestos a radiaciones ionizantes en distintos escenarios de sobreexposición.

Existen tres enfoques para convertir los métodos convencionales en métodos de alto rendimiento, reduciendo los tiempos de análisis:

- recuento con criterio de triage (reduciendo el número de células analizadas); aplicados a las técnicas de dicéntricos, micronúcleos (MN), y PCC-ring;
- utilización de sistemas automatizados para localización y captura de células para el recuento de dicéntricos, MN y PCC-ring; y
- trabajo en redes de dosimetría biológica (regionales e internacionales).



APLICABILIDAD DEL ENSAYO DE MICRONÚCLEOS - DOSÍMETRO BIOLÓGICO EN ESCENARIOS CON VÍCTIMAS MÚLTIPLES

El ensayo de MN es una herramienta biodosimétrica útil en escenarios con víctimas múltiples por su simplicidad, su bajo costo, fácil adaptación a sistemas automatizados de análisis y aplicación de criterios de triage.

El Laboratorio de Dosimetría Biológica (LDB) de la Autoridad Regulatoria Nuclear es miembro y coordinador líder, junto con el laboratorio de Cuba, de la Red Latinoamericana de DB.

El LDB ha implementado el ensayo de MN y cuenta con su propia Curva de Calibración.



APLICABILIDAD DEL ENSAYO DE MICRONÚCLEOS - DOSÍMETRO BIOLÓGICO EN ESCENARIOS CON VICTIMAS MÚLTIPLES

Las últimas reuniones realizadas por los laboratorios de la LDBnet:

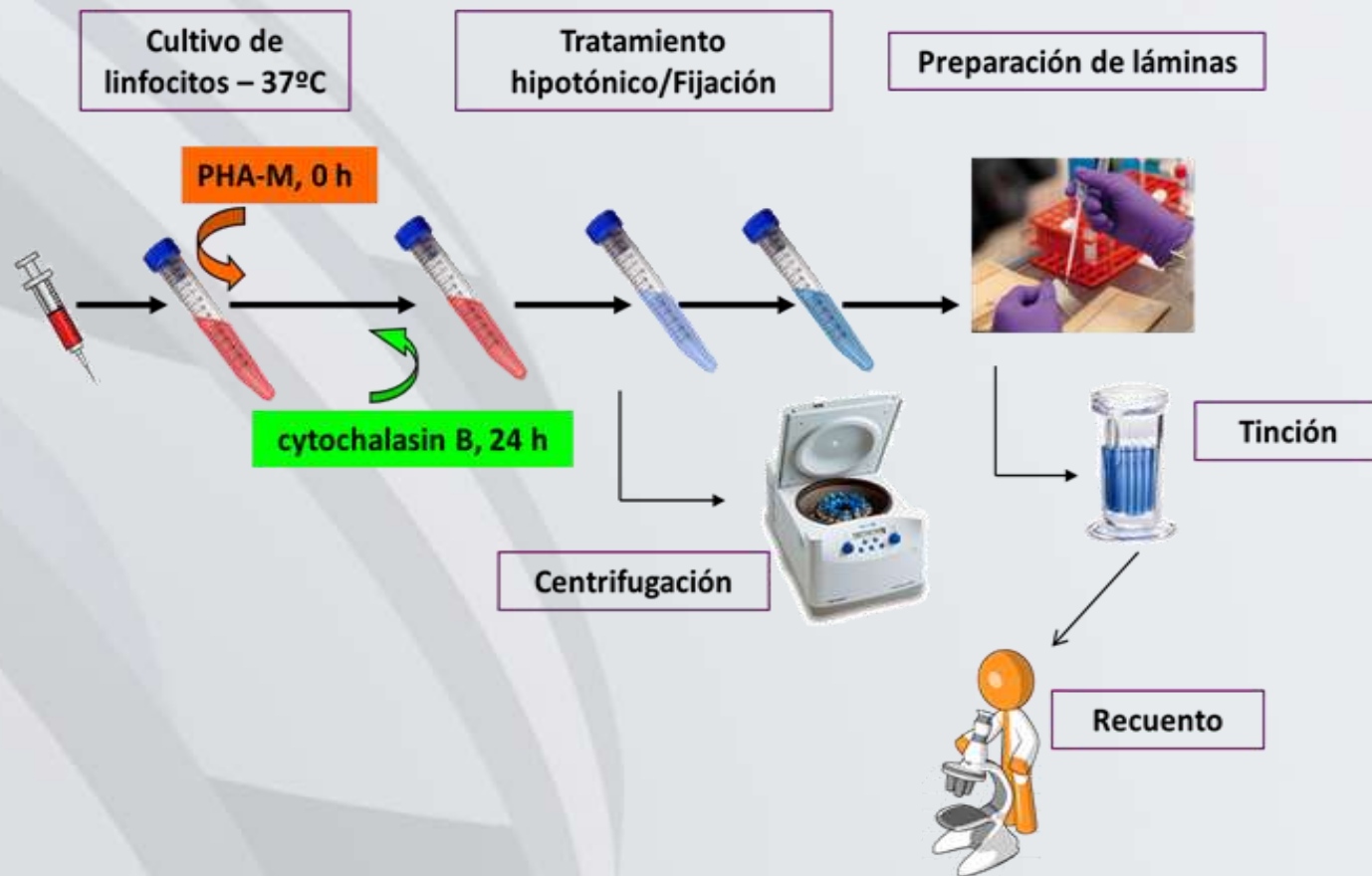
- “Curso regional de capacitación sobre Micronúcleos y la base radiobiológica de la protección radiológica RLA9074”. 2013
- “Reunión de expertos sobre estandarización de metodologías en biodosimetría y su diseminación regional como soporte de la respuesta médica en emergencias radiológicas –RLA9076”. 2014
- “Taller Regional sobre Pruebas de Micronúcleos por Bloqueo de la Citocinesis como Método Biodosimétrico en Sucesos con un Gran Número de Víctimas durante Emergencias Radiológicas”. 2016

Permitieron armonizar los siguientes criterios.



APLICABILIDAD DEL ENSAYO DE MICRONÚCLEOS- DOSÍMETRO BIOLÓGICO EN ESCENARIOS CON VICTIMAS MÚLTIPLES

➤ Unificación de Protocolo para el recuento de MN en Sangre periférica:



Armonización de Criterios de Selección

Selección de Células Binucleadas (CB)

Distinguir CB de aquellos linfocitos mononucleados o multinucleados

Núcleos de CB con membrana nuclear intacta y con un mismo límite citoplasmático

Núcleos con igual tamaño, perfil e intensidad de tinción

Núcleos pueden estar separados o conectados por uno o más puentes nucleoplasmáticos

Límite citoplasmático debe estar intacto y distinguirse de los límites de células vecinas

Dos núcleos principales pueden tocarse pero si se solapan se debe distinguir límites nucleares de ambos solaparse

Recuento de los Micronúcleos (MN)

Los MN son morfológicamente idénticos a los núcleos principales, pero menores

El diámetro de los MN varía entre 1/16 y 1/3 del diámetro medio de los núcleos principales

Los MN no deben ser refringentes

Los MN no deben estar unidos ni conectados a los núcleos principales

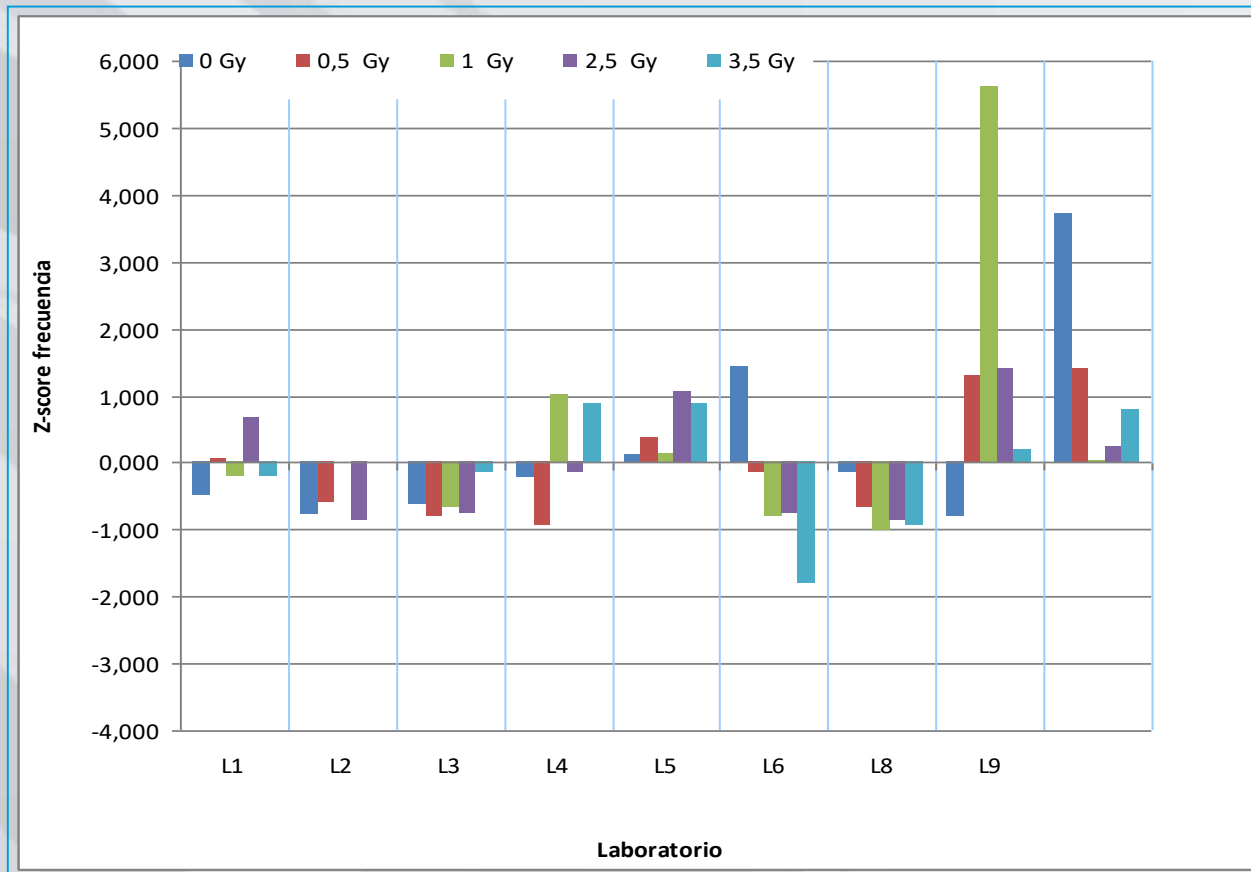
MN pueden tocar los núcleos principales, pero debe distinguirse el límite de los MN respecto de límites nucleares

Los MN presentan la misma o mayor intensidad de tinción que los núcleos principales



APLICABILIDAD DEL ENSAYO DE MICRONÚCLEOS- DOSÍMETRO BIOLÓGICO EN ESCENARIOS CON VICTIMAS MÚLTIPLES

➤ *Análisis de las frecuencias de MN observadas y evaluación de desempeño:*



| MN | | | | |
|-----------------|--------|------|------|--------|
| Código de dosis | dosis | S* | X* | CV |
| III | 0 Gy | 0,02 | 0,02 | 65,30 |
| II | 0,5 Gy | 0,04 | 0,04 | 100,73 |
| V | 1 Gy | 0,02 | 0,08 | 28,64 |
| I | 2,5 Gy | 0,13 | 0,17 | 77,54 |
| IV | 3,5 Gy | 0,19 | 0,40 | 46,26 |

z- score (Frecuencia) 1000 células MN-Consenso de los Laboratorios Participantes



APLICABILIDAD DEL ENSAYO DE MICRONÚCLEOS- DOSÍMETRO BIOLÓGICO EN ESCENARIOS CON VICTIMAS MÚLTIPLES

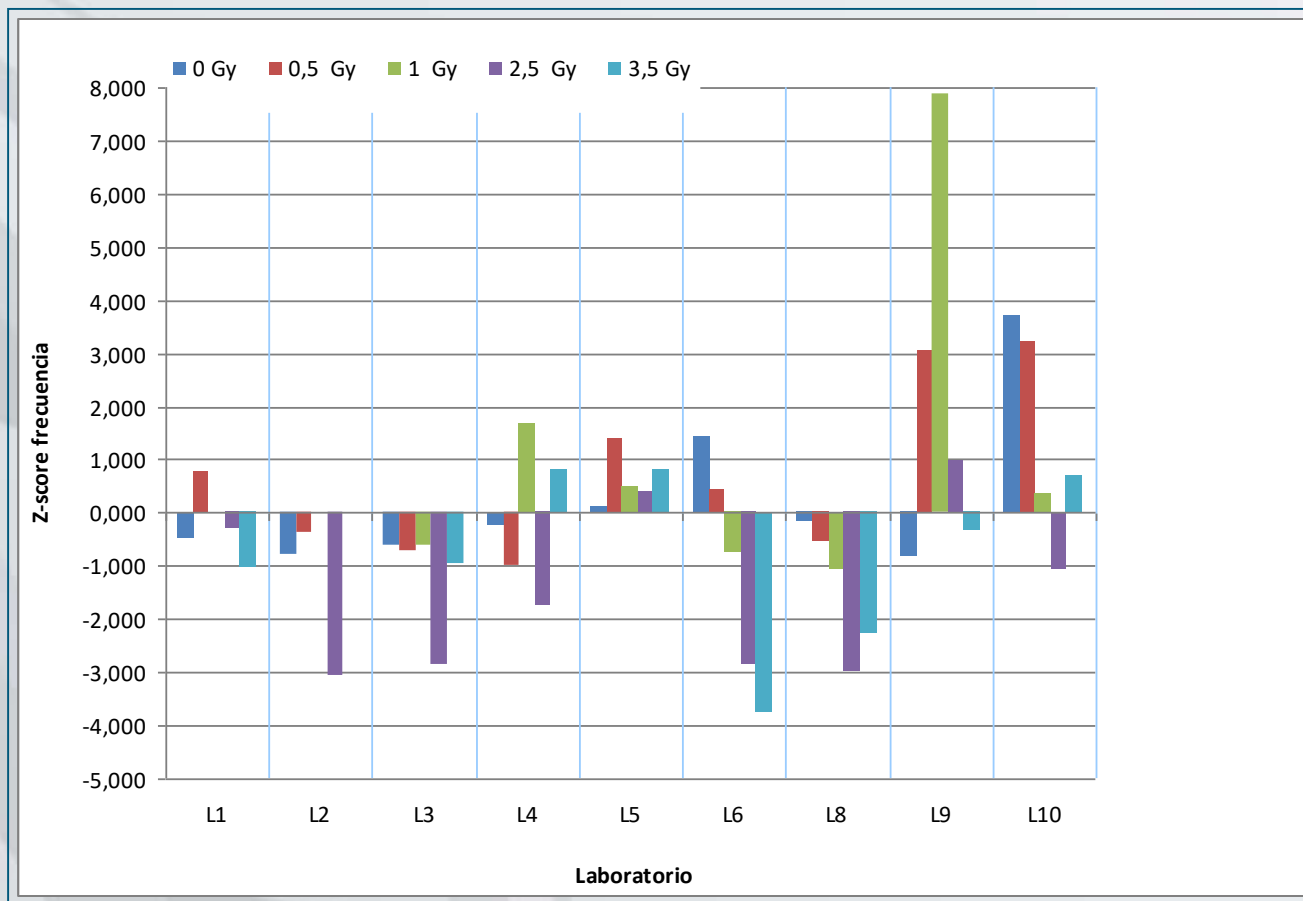
➤ *Análisis de los resultados de las frecuencias de MN en los 10 laboratorios participantes*

| Código | DI (2,5 Gy) | | | | DII (0,5 Gy) | | | |
|--------|-------------|------|------------------|--------------|--------------|------|------------------|--------------|
| | MN/1000 BN | BN | Dosis media [Gy] | IC 95% | MN/1000 BN | BN | Dosis media [Gy] | IC 95% |
| L1 | 257 | 1000 | 2,49 | [2,24; 2,76] | 37 | 1000 | 0,49 | [0,22; 0,76] |
| L2 | 54,93 | 3204 | 0,77 | [0,61; 0,94] | 14 | 3552 | 0 | |
| L3 | 70 | 999 | 0,97 | [0,73; 1,22] | 7 | 1000 | 0 | |
| L4 | 151 | 1000 | 1,76 | [1,50; 2,00] | 2 | 500 | 0 | |
| L5 | 308 | 1000 | 2,78 | [2,52; 3,07] | 49 | 1000 | 0,69 | [0,42; 0,94] |
| L6 | 70 | 1000 | 0,97 | [0,73; 1,22] | 30 | 1000 | 0,35 | [0,06; 0,62] |
| L7 | | | | | | | | |
| L8 | 58 | 1000 | 0,82 | [0,56; 1,07] | 11 | 1000 | 0,00 | [0,00; 0,10] |
| L9 | 353 | 1000 | 3,02 | [2,75; 3,32] | 82 | 1003 | 1,11 | [0,86; 1,35] |
| L10 | 202 | 1000 | 2,13 | [1,89; 2,39] | 85 | 1000 | 1,15 | [0,88; 1,39] |

| Código | DIII (0 Gy) | | | | DIV (3,5 Gy) | | | | DV (1 Gy) | | | |
|--------|-------------|------|------------------|--------------|--------------|------|------------------|--------------|------------|------|------------------|--------------|
| | MN/1000 BN | BN | Dosis media [Gy] | IC 95% | MN/1000 BN | BN | Dosis media [Gy] | IC 95% | MN/1000 BN | BN | Dosis media [Gy] | IC 95% |
| L1 | 40 | 1000 | 0,00 | [0,00; 0,28] | 364 | 1002 | 3,07 | [2,79; 3,38] | 78 | 1000 | 1,07 | [0,82; 1,31] |
| L2 | 5 | 3458 | 0 | | | | | | | | | |
| L3 | 14 | 1002 | 0,00 | [0,00; 0,21] | 373 | 980 | 3,12 | [2,84; 3,43] | 67 | 1000 | 0,93 | [0,67; 1,19] |
| L4 | 20 | 1000 | 0,09 | [0,00; 0,39] | 453 | 1001 | 3,49 | [3,20; 3,83] | 107 | 1000 | 1,37 | [1,12; 1,61] |
| L5 | 25 | 1000 | 0,23 | [0,00; 0,52] | 565 | 1008 | 3,97 | [3,66; 4,33] | 86 | 1006 | 1,16 | [0,91; 1,40] |
| L6 | 45 | 1000 | 0,62 | [0,35; 0,88] | 67 | 1010 | 0,94 | [0,68; 1,18] | 64 | 998 | 0,90 | [0,63; 1,14] |
| L7 | | | | | | | | | | | | |
| L8 | 21 | 1000 | 0,12 | [0,00; 0,43] | 229 | 1000 | 2,31 | [2,06; 2,57] | 59 | 1000 | 0,83 | [0,56; 1,09] |
| L9 | 11 | 1000 | 0,00 | [0,00; 0,10] | 440 | 1000 | 3,44 | [3,15; 3,77] | 217 | 1000 | 2,23 | [1,99; 2,49] |
| L10 | 80 | 1000 | 1,09 | [0,83; 1,34] | 553 | 1000 | 3,92 | [3,61; 4,28] | 84 | 1000 | 1,14 | [0,88; 1,38] |



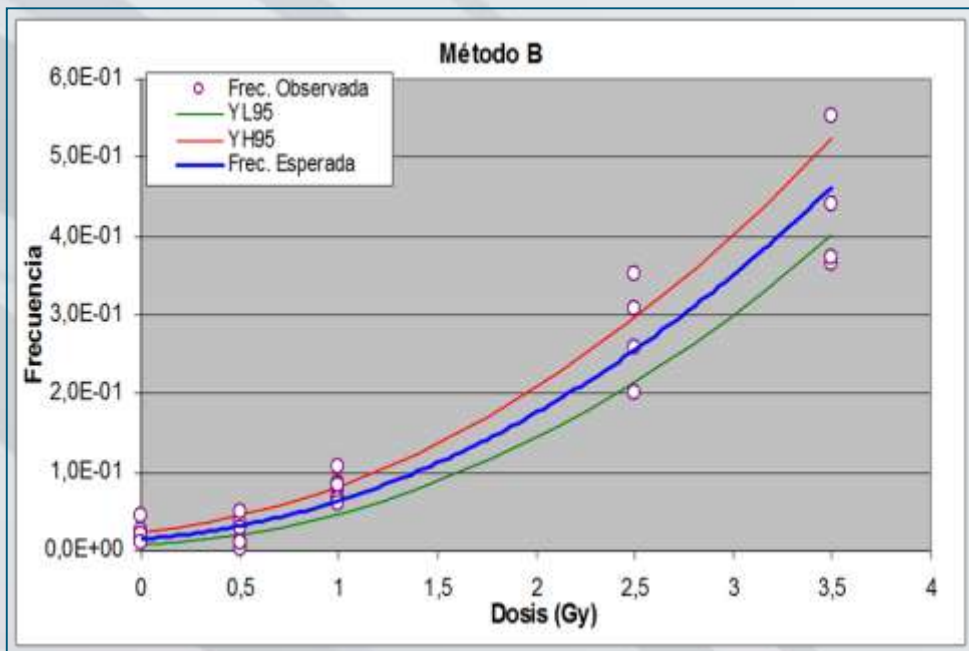
APLICABILIDAD DEL ENSAYO DE MICRONÚCLEOS- DOSÍMETRO BIOLÓGICO EN ESCENARIOS CON VICTIMAS MÚLTIPLES



z- score (Frecuencia) 1000 células MN-Consenso de laboratorios que se encontraban dentro del intervalo de confianza de la dosis física



APLICABILIDAD DEL ENSAYO DE MICRONÚCLEOS- DOSÍMETRO BIOLÓGICO EN ESCENARIOS CON VÍCTIMAS MÚLTIPLES



Curva de calibración armonizada considerando las frecuencias de los laboratorios con z-score satisfactorio.

| | | | |
|-------------------------------|------------------------------|--------------------------------|------------|
| $\chi^2 = 324,3$ | $D = 3,291E+02$ | $DF = 27$ | |
| $c = 1,5713E-02$ | $\alpha = 1,6078E-02$ | $\beta = 3,1916E-02$ | |
| $\sigma c = 1,2257E-03$ | $\sigma \alpha = 3,6838E-03$ | $\sigma \beta = 1,4884E-03$ | |
| $Var\ c = 1,5023E-06$ | $Var\ \alpha = 1,3571E-05$ | $Var\ \beta = 2,2152E-06$ | |
| Wald test $c = 1,2819E+01$ | Wald test $\alpha = 4,3646$ | Wald test $\beta = 2,1444E+01$ | |
| Matriz de Corr. Coef.= | 1,000 | -5,884E-01 | 3,885E-01 |
| | -5,884E-01 | 1,000 | -9,058E-01 |
| | 3,885E-01 | -9,058E-01 | 1,000 |
| Matriz Var.-Covar.= | 1,502E-06 | -2,657E-06 | 7,088E-07 |
| | -2,657E-06 | 1,357E-05 | -4,966E-06 |
| | 7,088E-07 | -4,966E-06 | 2,215E-06 |

Coefficientes de la curva de calibración armonizada



APLICABILIDAD DEL ENSAYO DE MICRONÚCLEOS- DOSÍMETRO BIOLÓGICO EN ESCENARIOS CON VICTIMAS MÚLTIPLES

Mediante la aplicación de un nuevo valor asignado para evaluar el desempeño de los laboratorios, se observó que el punto de dosis que presentó mayores dificultades en el análisis fue el de 2,5 Gy.

Se sugiere re evaluar los criterios de scoring e incorporar dos puntos de dosis que se encuentren en el rango de 2 a 3 Gy.

Reentrenamiento que permita tener una curva de calibración armonizada que sirve como disparador para aquellos laboratorios que quieren desarrollar la técnica de MN en sus laboratorios.



APLICABILIDAD DEL ENSAYO DE MICRONÚCLEOS- DOSÍMETRO BIOLÓGICO EN ESCENARIOS CON VICTIMAS MÚLTIPLES

➤ Perspectivas de trabajo:

- **Incentivar** a los laboratorios de la Red a la construcción de sus propias Curvas de Calibración *in vitro* para MN, determinación de la frecuencia espontánea de MN y del límite de detección.
- **Iniciar actividades** para continuar con la construcción armonizada de una curva de calibración *in vitro* para la técnica, para situaciones accidentales que involucren gran número personas sobreexpuestas y requieran la activación de mecanismos de asistencia mutua.



APLICABILIDAD DEL ENSAYO DE MICRONÚCLEOS- DOSÍMETRO BIOLÓGICO EN ESCENARIOS CON VICTIMAS MÚLTIPLES

- Por sus características de fácil implementación, susceptibilidad de automatización, indican que la técnica de MN, muestra una relación costo-beneficio favorable para ser aplicada como herramienta biodosimétrica en las redes de cooperación mutua.

Los ejercicios de intercomparación realizados permitieron afianzar la metodología de recuento de CB y MN.

- De esta forma se mantiene **activa la misión de la LBDNet**, que es ofrecer asistencia mutua en caso de emergencia radiológica y prestar servicio a los países de América Latina que no tengan laboratorios de DB o la técnica de este Dosímetro Biológico puesta a punto.



Gracias por su tiempo
Autoridad Regulatoria Nuclear



www.arn.gob.ar