

DIN EN ISO 11781:2025-07 (D)

Untersuchung auf molekulare Biomarker - Anforderungen und Leitfaden für die Einzellaborvalidierung qualitativer Real-time-PCR-Verfahren (ISO 11781:2025); Deutsche Fassung EN ISO 11781:2025

Inhalt	Seite
Europäisches Vorwort.....	7
Vorwort.....	8
Einleitung.....	9
1 Anwendungsbereich.....	10
2 Normative Verweisungen.....	10
3 Begriffe.....	10
4 Kurzbeschreibung.....	11
5 Einzellaborvalidierung der Leistungsmerkmale.....	11
5.1 Allgemeines.....	11
5.2 Nachweisgrenze.....	12
5.3 Bestimmung der Kopien der DNA-Zielsequenzen in DNA-Prüfmaterialien.....	12
5.4 Bewertung der Daten für die Nachweisgrenze.....	12
5.5 PCR-Effizienz und Variabilität der gemessenen Kopienzahl im Bereich der Nachweisgrenze.....	13
5.6 Spezifität.....	13
5.6.1 Allgemeines.....	13
5.6.2 Bioinformatische (In-silico-)Prüfung auf Spezifität.....	14
5.6.3 Praktische Prüfung auf Spezifität.....	14
5.6.4 Robustheit.....	14
6 Validierungsbericht.....	16
Anhang A (informativ) Schätzung der Kopienzahl der DNA-Zielsequenz.....	18
A.1 Allgemeines.....	18
A.2 Berechnung der Anzahl der haploiden Genomäquivalente.....	19
Anhang B (informativ) Bestimmung der Nachweisgrenze, der Präzision und der PCR-Effizienz.....	20
B.1 Allgemeines.....	20
B.2 Verdünnungsreihe der Ziel-DNA.....	20
B.3 Herstellung von PCR-Replikaten.....	20
B.4 Herstellung der Verdünnungsreihe für die Bestimmung der Nachweisgrenze.....	21
B.5 Beurteilung der beobachteten Variabilität der gemessenen Kopienzahl im Bereich der Nachweisgrenze (optional).....	21
B.6 Bestimmung der PCR-Effizienz (optional).....	22
B.6.1 Allgemeines.....	22
B.6.2 Rechnerische Bestimmung der PCR-Effizienz mittels linearer Regressionsanalyse.....	23
Anhang C (informativ) Verallgemeinertes lineares gemischtes Modell mit Log-Log-Kopplung.....	25
C.1 Anwendungsbereich des GLMM mit Log-Log-Kopplung (komplementäres Log-Log- Modell).....	25
C.2 Bestimmung der Nachweiswahrscheinlichkeit.....	25
C.3 Nachweiswahrscheinlichkeit, Amplifikationswahrscheinlichkeit und Nachweisgrenze.....	26
C.4 Nachweiswahrscheinlichkeitskurve.....	27
C.5 Software und Quellcode.....	27
C.5.1 Allgemeines.....	27

C.5.2	Schritt-für-Schritt-Anleitung der Benutzung von R und des Pakets POD	28
C.5.3	Interaktive webbasierte Anwendung	30
Anhang D (informativ)	Robustheitsprüfung	31
Literaturhinweise		32

Bilder

Bild C.1 — Beispiel einer POD-Kurve	30
--	-----------

Tabellen

Tabelle 1 — Beispiel einer Robustheitsprüfung bezüglich Faktoren und Modifikationen der Vorgehensweise und Bedingungen von qualitativen Real-time-PCR-Verfahren.....	15
Tabelle 2 — Beispiel einer Robustheitsprüfung mithilfe eines orthogonalen Versuchsplans.....	16
Tabelle A.1 — Masse des haploiden Genoms von relevanten Spezies	18
Tabelle B.1 — Beispiel für eine Verdünnungsreihe zur Bestimmung der LOD_{95%}	21
Tabelle B.2 — Beispiel für die statistische Bewertung einer DNA-Verdünnungsreihe (<i>n</i> = 12)	22
Tabelle D.1 — Beispiel für die Durchführung einer Robustheitsprüfung.....	31