

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 |