

# Validationsskala

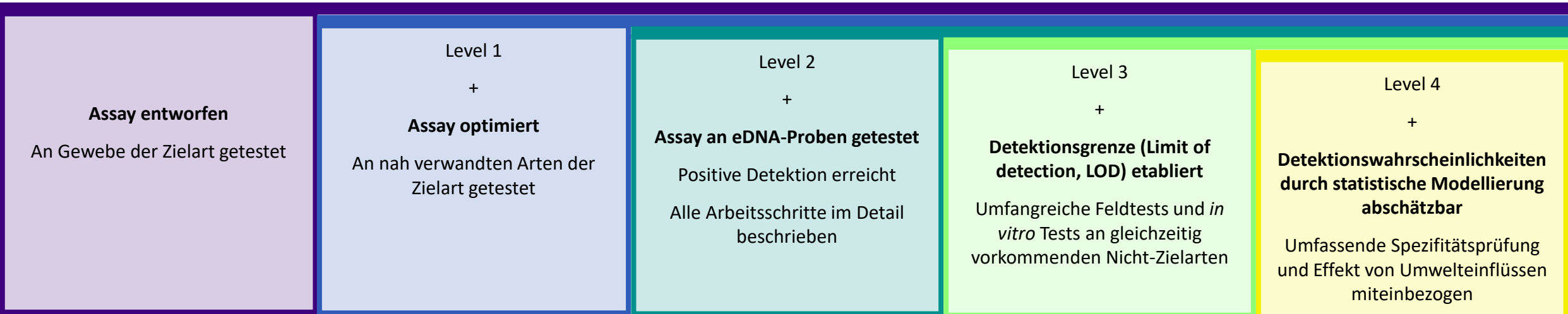
**Level 1**  
unvollständig

**Level 2**  
partiell

**Level 3**  
essenziell

**Level 4**  
substanziell

**Level 5**  
einsatzbereit



## Interpretation der Resultate

**Level 1 und 2**

Aussage zur An- oder Abwesenheit der Zielart unmöglich

**Level 3**

Keine Detektion: Aussage zur An- oder Abwesenheit der Zielart unmöglich

Detektion: Zielart ist wahrscheinlich anwesend, wenn

- Feldkontrollen negativ sind
- Arbeit unter geeigneten Laborbedingungen stattfand
- Positive Detektionen sequenziert werden

**Level 4 und 5**

Keine Detektion: Zielart wahrscheinlich abwesend, wenn Probennahme in angemessenen Zeitraum und mit ausreichend Replikation erfolgt; Level 5 gibt die Wahrscheinlichkeit des Vorhandenseins der Zielart trotz negativer Ergebnisse an

Detektion: Zielart wahrscheinlich anwesend

## Variablen-Gruppe und deren minimale Kriterien

Validationslevel	Variablen-Gruppe	Minimales Kriterium
Level 1	<i>In silico</i> Analyse	Primer sind auf Zielart angepasst
	Gewebe der Zielart	Verwendung von Gewebe der Zielart für Assay-Tests
	PCR auf Gewebe der Zielart	Sequenz der Primer (und Sonde) sind publiziert
Level 2	Detaillierte Beschreibung der verwendeten PCR-Bedingungen	Volumenangabe des DNA-Extraktes in der PCR Reaktion
	<i>In vitro</i> Tests an nah verwandten Nicht-Zielarten	Mindestens eine Form von <i>in vitro</i> Tests an nah verwandten Nicht-Zielarten
Level 3	Extraktionsmethode für eDNA-Proben	Angabe der verwendeten Extraktionsmethode
	eDNA Aufkonzentrierung aus der Umweltprobe	Angabe zum verwendeten Filtertyp oder Chemikalien für Ausfällung
	Erzielter Nachweis in einer Umweltprobe	Positive Detektion in einer Umweltprobe (künstliches oder natürliches Habitat)
Level 4	Detektionsgrenze (Limit of detection, LOD)	Detektionsgrenze wurde bestimmt
	Umfangreiche Feldtests mit Umweltproben	Positive Detektionen in mehreren Umweltproben oder an mehreren Standorten
	<i>In vitro</i> Tests an gleichzeitig auftretenden Nicht-Zielarten	Mindestens eine Form von <i>in vitro</i> Tests an gleichzeitig auftretenden Nicht-Zielarten
Level 5	Umfassendes Testen der Spezifität	Spezifität im Bezug auf nicht nah verwandte und nicht gemeinsam vorkommenden Arten <i>in silico</i> getestet
	Detektionswahrscheinlichkeit durch statistische Modellierung	Jede Bestrebung in Richtung Wahrscheinlichkeitsschätzung
	Verständnis von ökologischen und physikalischen Faktoren, welche die eDNA Nachweisbarkeit beeinflussen	Einfluss mindestens eines Faktors, der die Nachweisbarkeit potenziell beeinflusst, getestet

# Verbleibende Unsicherheiten auf jedem Level

Level 1	Level 2	Level 3	Level 4	Level 5
DNA könnte von anderen Organismen, einschließlich Menschen, eingebracht sein. Wenn die Zielart auch als Lebensmittel konsumiert wird, kann die DNA auch über das Abwasser eingebracht werden.	DNA könnte von anderen Organismen, einschließlich Menschen, eingebracht sein. Wenn die Zielart auch als Lebensmittel konsumiert wird, kann die DNA auch über das Abwasser eingebracht werden.	DNA könnte von anderen Organismen, einschließlich Menschen, eingebracht sein. Wenn die Zielart auch als Lebensmittel konsumiert wird, kann die DNA auch über das Abwasser eingebracht werden.	DNA könnte von anderen Organismen, einschließlich Menschen, eingebracht sein. Wenn die Zielart auch als Lebensmittel konsumiert wird, kann die DNA auch über das Abwasser eingebracht werden.	DNA könnte von anderen Organismen, einschließlich Menschen, eingebracht sein. Wenn die Zielart auch als Lebensmittel konsumiert wird, kann die DNA auch über das Abwasser eingebracht werden.
Es ist nicht bekannt, wie ökologische und saisonale Faktoren die Nachweisbarkeit beeinflussen.	Es ist nicht bekannt, wie ökologische und saisonale Faktoren die Nachweisbarkeit beeinflussen.	Es ist nicht bekannt, wie ökologische und saisonale Faktoren die Nachweisbarkeit beeinflussen.	Es ist nicht bekannt, wie ökologische und saisonale Faktoren die Nachweisbarkeit beeinflussen.	Einige ungetestete ökologische oder saisonale Faktoren können die Nachweisbarkeit dennoch beeinflussen.
Es ist nicht bekannt, wie viele Proben für eine 95% Detektionswahrscheinlichkeit erforderlich sind.	Es ist nicht bekannt, wie viele Proben für eine 95% Detektionswahrscheinlichkeit erforderlich sind.	Es ist nicht bekannt, wie viele Proben für eine 95% Detektionswahrscheinlichkeit erforderlich sind.	Es ist nicht bekannt, wie viele Proben für eine 95% Detektionswahrscheinlichkeit erforderlich sind.	Die Sensitivität kann in je nach Umgebung variieren.
Gleichzeitig vorkommende Arten, welche nicht getestet wurden, können zu falsch positiven Detektionen führen. PCR Produkte sollten sequenziert werden, um Nachweis der Zielart zu überprüfen.	Gleichzeitig vorkommende Arten, welche nicht getestet wurden, können zu falsch positiven Detektionen führen. PCR Produkte sollten sequenziert werden, um Nachweis der Zielart zu überprüfen.	Gleichzeitig vorkommende Arten, welche nicht getestet wurden, können zu falsch positiven Detektionen führen. PCR Produkte sollten sequenziert werden, um Nachweis der Zielart zu überprüfen.	Nicht verwandte Arten können gelegentlich amplifizieren, obwohl das Risiko dank der umfangreichen Feldtests sehr gering sein sollte. Eine zusätzliche Spezifitätsprüfung muss eventuell bei der Verwendung des Assays in einer andere Region (als ursprünglich validiert) durchgeführt werden.	Nicht verwandte Arten können gelegentlich amplifizieren, obwohl das Risiko dank der umfangreichen Feldtests sehr gering sein sollte. Eine zusätzliche Spezifitätsprüfung muss eventuell bei der Verwendung des Assays in einer andere Region (als ursprünglich validiert) durchgeführt werden.
Es ist nicht bekannt, ob dieses Assay für Umweltproben funktioniert.	Es ist nicht bekannt, ob dieses Assay für Umweltproben funktioniert.			

# Gültige Interpretation der eDNA-basierten Ergebnisse

	Level 1	Level 2	Level 3	Level 4	Level 5
<b>Negatives Resultat</b>	Unmöglich zu sagen, ob Zielart vorhanden ist oder fehlt	Unmöglich zu sagen, ob Zielart vorhanden ist oder fehlt	Unmöglich zu sagen, ob Zielart vorhanden ist oder fehlt	Zielart ist wahrscheinlich abwesend, vorausgesetzt Probenahme wurde in der passenden Jahreszeit und mit einem hohen Mass an Replikationen durchgeführt	Zielart ist wahrscheinlich abwesend. Die Anwesenheits-Wahrscheinlichkeit der Zielarten trotz dieses negativen Ergebnisses (falsch negatives Resultat) kann angegeben werden, falls eine angemessene Probenahme stattgefunden hat.
<b>Positives Resultat – Amplifikation</b>	Unmöglich zu sagen, ob Zielart vorhanden ist oder fehlt	Unmöglich zu sagen, ob Zielart vorhanden ist oder fehlt	Zielart ist wahrscheinlich vorhanden	Zielart ist sehr wahrscheinlich vorhanden	Zielart ist sehr wahrscheinlich vorhanden
<b>Positives Resultat – Sequenziert*</b>	DNA der Zielart ist auf jeden Fall vorhanden	DNA der Zielart ist auf jeden Fall vorhanden	DNA der Zielart ist auf jeden Fall vorhanden	DNA der Zielart ist auf jeden Fall vorhanden	DNA der Zielart ist auf jeden Fall vorhanden

\* Eine Kontamination ist immer möglich. Daher müssen entlang der gesamten Verarbeitungskette (von der Feldprobenahme bis zur PCR) genügend Negativkontrollen erzeugt werden. Dies ist besonders wichtig, wenn kurze DNA-Fragmente (unter 100 Basenpaare) amplifiziert werden und das sequenzierte Fragment hauptsächlich aus Primersequenzen besteht und keine Unterscheidung zwischen verschiedenen Arten zulässt.