



**An die Teilnehmer  
der INSTAND e.V. -Ringversuche Bakteriengenomnachweis PCR / NAT  
(INSTAND-Ringversuchsnummern 530 bis 541)**

**Dear Participant, dear Colleague,**

*Please find a cover letter and a brief discussion of the current results in English on pages 20-26 of this document. As always, result tables are depicted in a bilingual style.*

**Sehr geehrte Kolleginnen und Kollegen,**

Sie erhalten hiermit die Auswertung des aktuellen INSTAND-Ringversuchs zum Bakteriengenom-Nachweis mittels PCR oder anderer Nukleinsäureamplifikationstechniken.

Ihre individuellen Resultate und deren Bewertung können Sie in gewohnter Weise der beigefügten Teilnahmebescheinigung entnehmen.

Falls Sie an einer etwas umfangreicheren Diskussion unserer Ringversuchsaktivitäten im Bereich "Bakteriengenom-Nachweis" und näheren Informationen zur Konzeption der Ringversuchsproben interessiert sein sollten, sei hier wie gehabt auf folgende Veröffentlichungen in den Zeitschriften "Der Mikrobiologe" (Herausgeber: BÄMI, Berufsverband der Ärzte für Mikrobiologie und Infektionsepidemiologie e.V.) und "Hygiene und Mikrobiologie" (Herausgeber: DGHM, Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie e.V.) verwiesen:

> Reischl, U., N. Lehn, H. Wolf und E. Straube (2003) "Bakteriengenom-Nachweis PCR / NAT": Eine neue Ringversuchsreihe von INSTAND e.V. zur externen Qualitätskontrolle molekularbiologischer Nachweisverfahren in der bakteriologischen Diagnostik. *Mikrobiologe* **13**:149-156.

> Reischl, U., N. Lehn, H. Wolf und E. Straube (2004) *Hyg. Mikrobiol.* **8**:19-21.

Sowohl im Zusammenhang mit einer Erweiterung unseres Ringversuchsprogramms als auch bei der Gestaltung zukünftiger erregerspezifischer Ringversuche sind wir für alle kritischen Kommentare und Anregungen überaus dankbar. Projekte wie diese wachsen mit dem konstruktiven *feedback* der einzelnen Teilnehmer. Erfreulicherweise waren die Kommentare in den letzten sieben Jahren überwiegend positiv - vielen Dank !!

Mit freundlichen und kollegialen Grüßen,

**PD Dr. Udo Reischl**

Ringversuchsleiter Bakteriengenomnachweis  
Mitglied der Qualitätssicherungskommission der DGHM

**Prof. Dr. E. Straube, Prof. Dr. M. Maaß, Prof. Dr. E. Jacobs, PD Dr. W. Schneider, Dr. V. Fingerle**

June 8, 2010

To the participants of the  
INSTAND external quality assessment scheme (EQAS)  
for NAATs in Diagnostic Bacteriology  
Bacterial Genome Detection (PCR / NAT)  
(INSTAND Proficiency Test Numbers 530 to 541)

**Dear Participant, dear Colleague,**

Please find enclosed a brief analysis report of the recent proficiency test panel "Bacterial Genome Detection (PCR / NAT)". It summarizes some benchmarks and the overall assessment of results reported by all of the the participating laboratories.

The accuracy of your individual results is indicated on your personal certificate issued by INSTAND e.V., Düsseldorf, Germany (attached to this letter).

This highly desired sheme for external quality assessment (EQAS) was activated in 2002 by the *German Society of Hygiene and Microbiology* (DGHM) and is now organized by INSTAND e.V., Düsseldorf, Germany. As you can learn from "[www.instandev.de](http://www.instandev.de)", this new segment of their huge proficiency testing program is now open for diagnostic laboratories worldwide. We are aiming at two validation rounds per year (spring and autumn), a reasonable price of less than € 150 per set, and a permanently expanding coverage of relevant bacterial pathogens. Any general or specific comments on sample composition or suggestions on additional bacterial, fungal, or parasitic organisms which should be covered, are highly appreciated.

Please do not feel irritated by some strong-positive samples among the present set. To make participants and ourselves familiar with the concept and the suitability of the proprietary sample matrix, "passing" should be easy in the initial rounds. But now as the program continues, it is our challenge (and duty) to rise at least some of the hurdles with every round of external validation.

Further information as well as the documented and analyzed results of the past rounds of our quality control and proficiency test program "Bacterial Genome Detection (PCR / NAT) can be downloaded in form of pdf-files at "[www.udo-reischl.de](http://www.udo-reischl.de)", subsection "INSTAND Ringversuche (PCR / NAT)". Although the preferred language of these documents is German, we are aiming to provide at least some key documents and the tables in a bilingual style. **New since 2009:** due to the growing number of international participants, we will further include a brief discussion of the results in English (see the following pages).

Hopefully you found this kind of external validation benefitting and you will continue to join the future rounds of our EQAS scheme in bacterial genome detection (NAT/ PCR).

If you should have any further questions, please do not hesitate to contact me by e-mail: "[udo.reischl@klinik.uni-regensburg.de](mailto:udo.reischl@klinik.uni-regensburg.de)"

With best personal regards,



**PD Dr. Udo Reischl**

Organizer of the proficiency testing program "Bacterial Genome Detection"  
Member of the Quality Assurance Board (DGHM; German Society of Hygiene and Microbiology)

**Prof. Dr. E. Straube, Prof. Dr. M. Maaß, Prof. Dr. E. Jacobs, PD Dr. W. Schneider, Dr. V. Fingerle**

## Gesamtübersicht und Auswertung der Ringversuchsergebnisse aller Teilnehmer

Neben der Aussendung von lyophilisierten Probenmaterialien zur systematischen Abprüfung von NAT-gestützten Testsystemen für derzeit 11 unterschiedliche bakterielle Zielorganismen bzw. Pathogenitätsfaktoren gab es im Rahmen dieser Ringversuchsrunde auch wieder zwei „highlights“: zum einen wurde in einer der 4 Einzelproben des RV 531 wieder die **schwedische Chlamydienvariante (nvCT)** ausgesandt und zum anderen befand sich der **sog. Züricher Drogenstamm** in einer der 4 Proben des MRSA Ringversuchs RV 539.

Eine weitere Anmerkung vorab: Aufgrund zahlreicher Anfragen aus dem Teilnehmerkreis ist für den Herbst 2010 eine Erweiterung des Spektrums an Zielorganismen geplant. Wir beschäftigen uns gerade mit der Konfektionierung und Herstellung eines Proberingversuchs für den NAT-gestützten Nachweis von *Coxiella burnetti* und *Francisella tularensis*. Eine limitierte Anzahl von entsprechenden Probensets wird voraussichtlich im Rahmen der kommenden Ringversuchsrunde im November 2010 für interessierte Teilnehmer verfügbar sein. Als Sollwertlabor fungieren hier die Kollegen Dr. D. Frangoulidis und Dr. W. Splettstösser vom Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr in München (Konsiliarlabor für Tularämie) in enger Absprache mit dem Konsiliarlabor für Q-Fieber in Stuttgart. Bei erfolgreichem Verlauf werden diese erregerspezifischen Ringversuche dann in das reguläre Ringversuchsprogramm "Bakteriengenomnachweis PCR/NAT" von INSTAND e.V. aufgenommen.

**Übrigens:** das **REMMDI 2011** wird vom **14.-16. April 2011** wieder in Regensburg stattfinden. Diesen Termin eventuell schon mal vormerken... Nähere Informationen finden Sie demnächst unter [www.remmdi.de](http://www.remmdi.de)

### APRIL 2010:

Entsprechend des Grundgedankens unserer Ringversuchsaktivitäten wurde auch bei der Konzeption des aktuellen Ringversuchs zum "Bakteriengenomnachweis mittels PCR oder anderer Nukleinsäureamplifikationstechniken (NAT)" bei einigen Zielorganismen der Versand von Proben mit relativ niedrigen Erregerzahlen angestrebt.

In den aktuellen Ringversuchssets befanden sich daher erneut einige Proben mit relativ geringer Menge folgender Zielorganismen: *Chlamydia trachomatis* (Proben # 1015303, 1015304, sowie die schwach positive Probe des RV 531 # 1015314), *Neisseria gonorrhoeae* (Probe # 1015303), *Bordetella pertussis* (Probe # 1015324), *Helicobacter pylori* (Probe # 1015334), *Borrelia afzelii* (Probe # 1015352), *Legionella pneumophila* (Probe # 1015363), sowie *Listeria monocytogenes* (Probe # 1015381). Hervorzuheben ist auch die Verfügbarkeit von Probenmaterial mit nennenswerten Mengen der schwedischen *C. trachomatis* Mutante (nvCT) in Probe # 1015313 dieser Ringversuchsrunde. Im Rahmen der Testentwicklung bzw. Testoptimierung können diese Probensätze u.a. als Qualitätskontrollen oder als standardisierte Sensitivitätsmarker für die Austestung der unteren Nachweisgrenze von eigenentwickelten Nukleinsäure-gestützten Testsystemen dienen.

An dieser Stelle möchten wir auch darauf hinweisen, daß zahlreiche Rückstell-Probensätze der früheren Ringversuche noch verfügbar sind und bei Bedarf über den Ringversuchsleiter formlos nachbestellt werden können.

Mit Ausnahme der zuvor erwähnten "grenzwertig positiven" Einzelproben wurden die Mengen der entsprechenden Zielorganismen in den Probensätzen der aktuellen Ringversuchsrunde wieder relativ deutlich über der Nachweisgrenze von "durchschnittlich sensitiven PCR/NAT-Testkonzepten" eingestellt. Diese definieren wir wie folgt: als Richtwert für die Bewertung von Ringversuchsergebnissen gilt das 10- bis 50-fache der unteren Nachweisgrenze durchschnittlich sensitiver PCR-Protokolle unter Standardbedingungen (50 µl Block-Cycler Reaktionsansätze, 35 PCR-Zyklen, ggf. entsprechende *real-time* PCR Protokolle; gut evaluierte Primersequenzen).

Bei den meisten Probenmaterialien der aktuellen Ringversuchsrunde stellen falsch-negative Ergebnisse damit einen deutlichen Hinweis auf ernstzunehmende Mängel innerhalb der eingesetzten Verfahren zur Nukleinsäure-Extraktion, Amplifikation und Detektion dar. Falsch-positive Ergebnisse sind dagegen in der Regel als Hinweis auf eine Kreuzkontamination während der Probenextraktion und -abarbeitung und/oder auf mangelnde Spezifität der eingesetzten Testsysteme zu betrachten.

In bewährter Form werden im Folgenden die Ergebnisse der jeweiligen erregerspezifischen Ringversuche dargestellt. Tabelle 1 zeigt dabei die Probenzusammensetzung und das erwartete Ergebnis (Sollwert) mit den entsprechenden Codenummern der Ergebnisbögen. Die von den einzelnen Teilnehmern mitgeteilten Ergebnisse werden in Tabelle 2 nach der Häufigkeit der Mitteilung von positiven oder negativen Ergebnissen und in Tabelle 3 nach der absoluten Anzahl der richtig positiven und richtig negativen Ergebnisse sowie deren prozentualem Anteil (Befundhäufigkeit) je Amplifikationssystem bzw. Testkonzept aufgeschlüsselt. Für die objektive Bewertung von kommerziellen Testsystemen sollten neben der rein statistischen Betrachtung der mitgeteilten Ringversuchsergebnisse auch die Anzahl und vor allem die methodische bzw. technische Qualifikation der individuellen Teilnehmer berücksichtigt werden. Da wir im Zuge unserer Ringversuche aber das gesamte Spektrum von spezialisierten Expertenlabors bis hin zum "Gelegenheitsanwender" abdecken, müssen die arithmetisch ermittelten Richtigkeitsquoten bei der Bewertung einzelner Testsysteme immer mit einem gewissen Toleranzbereich betrachtet werden. Auch im Rahmen des hier diskutierten Ringversuchs waren wieder einige Auffälligkeiten hinsichtlich der Spezifität und Sensitivität von bestimmten Testkonzepten und der für den Nachweis verwendeten Zielsequenzen zu beobachten. Diese Aspekte sind bei der Auswertung des jeweiligen Ringversuchs aufgeführt und dort auch kurz diskutiert. Zusätzlich stehen für die früheren, für diesen und für alle folgenden Ringversuche eine Reihe zusätzlicher Informationen (wie die graphisch dokumentierten Ergebnisse unserer quantitativen *real-time* PCR Testsysteme oder die Ergebnisse einiger kommerzieller PCR Testsysteme) auch unter folgender Internetadresse: "[www.udo-reischl.de](http://www.udo-reischl.de)"; Unterpunkt "Auswertung der Ringversuche" und neuerdings auch über die Homepage von INSTAND e.V. ([www.instandev.de](http://www.instandev.de)) als *pdf*-Files zum freien Download bereit. An dieser Stelle möchte ich mich noch einmal ausdrücklich bei den geschätzten Kolleginnen und Kollegen für ihre zahlreichen und überaus konstruktiven Kommentare und Anregungen zu den Ausführungen in dieser Ringversuchsdiskussion bedanken.

### **RV 541: *Mycoplasma pneumoniae***

Aufgrund zahlreicher Rückfragen von Teilnehmern des vergangenen Ringversuchs hier eine wichtige Anmerkung vorab: der Ringversuch Bakteriengenomnachweis PCR/NAT *Mycoplasma pneumoniae* ist **ausschließlich** für die Abprüfung von NAT-gestützten Methoden und Protokollen **zum Direktnachweis geringer Mengen an *Mycoplasma pneumoniae* DNA** aus geeignetem klinischem Untersuchungsgut, wie beispielsweise respiratorischem Probenmaterial, konzipiert. Einige der positiven Proben innerhalb des ausgesandten 4-er Sets werden daher typischerweise relativ geringe Mengen der entsprechenden Zielorganismen enthalten (auch wenn im aktuellen Set von Ringversuchsproben ausnahmsweise keine dieser schwach positiven Proben enthalten war).

Da NAT-gestützte Verfahren zum Direktnachweis geringer Mengen an *Mycoplasma pneumoniae* aus geeignetem klinischem Untersuchungsmaterial vor allem zur differentialdiagnostischen Abklärung respiratorischer Infektionen zunehmend an Aktualität gewinnen, sind bereits einige Testsysteme bzw. Testkits kommerziell verfügbar. Deren Verwendung wird im Zuge dieses Ringversuchs auch systematisch abgefragt. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt können aber noch keine grundlegenden Bewertungen hinsichtlich der Sensitivität und Spezifität von individuellen Testkonzepten getroffen werden, und die in der Tabelle 3 dargestellten Zahlenwerte haben noch eher einen orientierenden Charakter.

Wie in Tabelle 1 dargestellt, enthielt das aktuelle Set an Ringversuchsproben diesmal nur zwei positive Proben: Probe # 1015412 mit relativ hoher Menge an Zielorganismen (*M. pneumoniae*,  $\sim 6 \times 10^5$  Genomkopien/mL) und Probe # 1015414 mit ca. dreifach geringerer Menge (*M. pneumoniae*,  $\sim 2 \times 10^5$  Genomkopien/mL). Um die Spezifität der Testsysteme abzuprüfen enthielt Probe # 1015413 diesmal ein Isolat von *M. orale* als eine ebenfalls im Respirationstrakt vorkommende kommensale Spezies ( $\sim 10^4$  Genomkopien/mL). Im Ringversuchsprobenset befand sich zudem eine Probe ohne Zielorganismen (# 1015411), die nur humane Zellen und *E. coli* enthielt.

Insgesamt betrachtet wurden im Rahmen des aktuellen Probensets von den Teilnehmern durchwegs hohe Richtigkeitsquoten erzielt.

So konnten diesmal 84 der insgesamt 85 Teilnehmer in der relativ stark positiven Probe # 1015412 bzw. 79 Teilnehmer in der etwas geringer positiven Probe # 92421 die DNA der *M. pneumoniae* Zielorganismen problemlos und zuverlässig nachweisen. In diesem Zusammenhang ist es etwas verwunderlich, daß von einem Teilnehmer die stark positive Probe und von 5 Teilnehmern die etwas schwächer positive Probe als "negativ" klassifiziert wurde. Aber neben einer "banalen" Probenverwechslung mag dies auch PCR Reaktions- oder amplifikationstechnische Gründe haben die sich einer detaillierten Analyse im Rahmen der Ringversuchsauswertung entziehen. Ein falsch-negatives Ergebnis bei relativ stark positiven Proben sollte den entsprechenden Teilnehmern jedoch Anlaß zur kritischen Überprüfung des jeweiligen Testsystems oder der Optimierung des diagnostischen Arbeitsablaufs geben.

Mit Ausnahme eines Teilnehmers, der sein Ergebnis als „fraglich“ klassifiziert hat, wurden bei der negativen Probe # 1015411 von den 85 teilnehmenden Laboratorien keine falsch-positiven Ergebnisse berichtet. Dies spricht auch im Rahmen des aktuellen Ringversuchs für ein gutes Funktionieren von Test- bzw. laborspezifischen Maßnahmen zur Vermeidung von Kontaminationsereignissen. Um im Rahmen der Möglichkeiten dieses Ringversuchskonzepts auch die Spezifität der eingesetzten Testsysteme abzuprüfen, enthielt eine der 4 Proben (# 1015413) diesmal eine nennenswerte Menge ( $\sim 10^4$  Genomkopien/mL) an *M. orale* als verwandte Spezies, was bei der Mehrzahl der Teilnehmer erfreulicherweise zu keinen falsch-positiven NAT-Ergebnissen führte. Lediglich 2 Teilnehmer berichteten hier ein (falsch-)positives Ergebnis und ein Teilnehmer klassifizierte sein Ergebnis für die Probe # 1015413 als „fraglich“.

Auch wenn es sich hier um einen relativ neu eingeführten Ringversuch handelt und umfassende Erfahrungswerte aus früheren Ringversuchsrunden noch fehlen, so zeigt die Auswertung der Ergebnisse bereits deutlich auf, daß auch die Spezifität der gegenwärtig eingesetzten und z.T. auch bereits sehr gut evaluierten NAT-gestützten Analysensysteme für den Nachweis von *M. pneumoniae* DNA relativ hoch zu sein scheint (siehe Tabelle 3).

Nur bei 2 der insgesamt 85 Teilnehmer zeigten sich offenkundige Spezifitätsprobleme bei den eingesetzten Testsystemen, die im Ergebnisformular als "*in-house* PCR assay" oder "Andere" klassifiziert wurden. Unter der Rubrik "Zielsequenz" wurde hier die Verwendung ribosomaler Zielsequenzen unter Einsatz eines eigenentwickelten real-time PCR Protokolls bzw. die Verwendung des P1 Adhesin Gens als *M. pneumoniae*-spezifische Zielsequenzen angegeben. Da sich *M. orale* zumindest auf Ebene der 16S rDNA Sequenz jedoch in zahlreichen Nukleotidpositionen von *M. pneumoniae* unterscheidet, sollten hier von Teilnehmern mit falsch-positivem Ergebnis die Annealingbedingungen, die Hybridisierungsregionen der verwendeten Primer und/oder Sonden sowie die Auswahl einer geeigneten Zielsequenz überprüft und gegebenenfalls nachgebessert werden.

Die im Rahmen dieser Ringversuchserie mit eigenen Codenummern aufgeführten kommerziellen Testsysteme TIB Molbiol LightMix *M. pneumoniae* (11 Teilnehmer), Qiagen/artus *M. pneumoniae* LC PCR Kit (4 Teilnehmer), sowie Minerva Venor Mp (5 Teilnehmer) konnten mit erfreulich guten Ergebnissen aufwarten. Die diagnostische Performance eines etablierten *in-house* Protokolls und ausgewählter kommerzieller NAT-Testsysteme zum Nachweis von *M. pneumoniae* DNA wurde kürzlich im Rahmen einer systematischen Studie untersucht. Auch hier erwiesen sich diese Testsysteme als spezifisch, sensitiv und auch zuverlässig bezüglich der Erfassung aller relevanten *M. pneumoniae* Subtypen und Varianten: Dumke, R. und E. Jacobs (2009) Comparison of commercial and in-house real-time PCR assays used for the detection of *Mycoplasma pneumoniae*. J. Clin. Microbiol. 47: 441-444.

Im Kommentarfeld des Ergebnisformulars wurde unter Code [27] "Andere kommerzielle Testsysteme" zusätzlich die Verwendung folgender Kits aufgeführt: CAP Bac Kit von Autoimmun Diagnostika (3x), *M. pneumoniae* Q-PCR Alert Kit von Nanogen (2x), MYPD-LC von PIIM (2x), GeneProof *M. pneumoniae* PCR Detection Kit (1x), Argene Chlamylege (1x), LCD Array Kit (1x), Minerva Biolabs Venor MP-QP (1x), und Duplica Real Time *M. pneumoniae* Detection Kit der Fa. Euroclone (1x).

## **ENGLISCH:**

### **RV 541: *Mycoplasma pneumoniae***

The concept of this proficiency testing series is designed to determine the analytical sensitivity and specificity of NAT-based assays for the direct detection of *M. pneumoniae* in typical sample material. With the development and composition of the corresponding sample materials we want to mimic the situation of processing typical clinical samples like BAL or other respiratory materials. So the lyophilized samples may contain low amounts of target organisms in a natural background of human cells and other components typically present in patient specimens. As a consequence, diagnostic assays designed for *M. pneumoniae* antigen detection in clinical specimens or other serological assays will fail due to the low number of *M. pneumoniae* infected cells in individual samples of the QC set.

The current set of QC samples contained two positive samples. A relatively high amount of *M. pneumoniae* ( $\sim 6 \times 10^5$  genome copies/mL) was present in sample # 1015412 and an approximately threefold lower amount of *M. pneumoniae* ( $\sim 2 \times 10^5$  genome copies/mL) was present in sample # 1015414. Sample # 92424 was designed to monitor assay specificity: it contained a considerable amount of *M. orale* ( $\sim 10^4$  genome copies/mL) as a related species to the target organism. The set was completed by sample # 1015411, which contained only human cells and a considerable amount of *E. coli* organisms.

As already observed during the past rounds of our EQAS scheme, the availability of well-established commercial or *in-house* PCR/NAT-assays has led to a surprisingly high percentage of correct results. Among the *Mycoplasma pneumoniae*-specific results reported by the 85 participants, only one false-negative result for sample # 1015412, five false-negative results for sample # 10154124, and 2 false-positive results for the *M. orale* sample # 1015413 (presumably due to intralaboratory cross-contamination events or analytical specificity issues with the corresponding PCR-based assays), and no false-positive result for the “negative” sample # 1015411 (presumably caused by intralaboratory cross-contamination events) were reported. All in all, a very good diagnostic performance was observed for the *M. pneumoniae*-specific PCR assays used by the 75 participants.

It is noteworthy to mention that all of the participants who indicated the use of the following commercial test systems or commercial PCR kits have obtained correct results for all samples of this ring trial: “commercial assay / kit” (15 participants), Qiagen/artus *M. pneumoniae* LC PCR Kit (4 participants), and Minerva Venor Mp (5 participants).

**PCR-/NAT *Mycoplasma pneumoniae***  
**(RV 541) April 2010**



**Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.**  
*Sample composition and expected results.*

Gruppe A	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
1015411	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
1015412	++	61	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> (~ 6 x 10 <sup>5</sup> genome copies/mL)
1015413	∅	62	<i>Mycoplasma orale</i> (~ 10 <sup>4</sup> genome copies/mL)
1015414	++	61	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> (~ 2 x 10 <sup>5</sup> genome copies/mL)

**Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.**  
*Absolute numbers of reported individual results.*

n = 85	Probennummer (Sample no.)					Inhibition			
	1015411	1015412	1015413	1015414		1015411	1015412	1015413	1015414
<b>Befund</b> <i>Result</i>									
<b>Positiv</b>	0	84	2	79	n.d.	0	0	0	0
<b>Negativ</b>	84	1	82	5	nein <i>no</i>	85	85	84	85
<b>Fraglich</b> <i>Questionable</i>	1	0	1	1	ja <i>yes</i>	0	0	1	0

**Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden.**

*Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.*

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>			NAT richtig negativ <i>True negative results</i>		
	Absolut <i>Absolute</i>	Relativ <i>Relative</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	Relativ <i>Relative</i>	%
LightMix <i>M.pneumoniae</i> [20] (n = 11)	20	20 / 22	91	22	22 / 22	100
Qiagen <i>M.pneumoniae</i> [21] (n = 4)	8	8 / 8	100	8	8 / 8	100
Minerva Venor Mp [22] (n = 5)	9	9 / 9 <sup>§</sup>	100	10	10 / 10	100
Commercial assay / kit [27] (n = 15)	30	30 / 30	100	29	29 / 29 <sup>§</sup>	100
In house PCR assay [28] (n = 48)	92	92 / 96	96	93	93 / 95 <sup>§</sup>	98
Andere / k.A. / other [29] (n = 2)	4	4 / 4	100	4	4 / 4	100

<sup>§</sup> Due to reporting questionable results, the number of true results (denominator in the "relative" column) have been reduced





Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene  
 Universität Regensburg, FJS-Allee 11, 93053 Regensburg  
<http://www.udo-reischl.de>

INSTAND e. V.  
 Gesellschaft zur Förderung der Qualitätssicherung  
 in medizinischen Laboratorien e.V.  
<http://www.instand-ev.de>



## 541 Bakteriengenom-Nachweis *Mycoplasma pneumoniae* status 04.2010

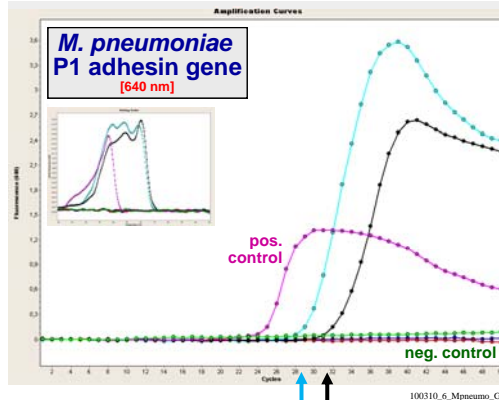
### Evaluation (quantitative Real-Time PCR):

Reischl / Linde / Wolf / Jacobs

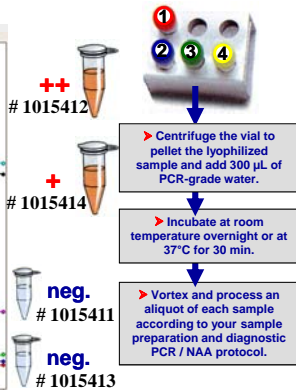
1	1015411	
2	1015412	28,50
3	1015413	
4	1015414	31,68
5	Pos. Ko. M. pneumoniae	22,90
6	NTC	



**LightCycler PCR protocol:**  
 In-house LightCycler protocol based on:  
 Sharma et al. (1998) Detection and  
 Confirmation of *Mycoplasma pneumoniae*  
 in Urogenital Specimens by PCR. JCM  
 36:277-280.



Genome copies per  
 5 µl template DNA input:  
 ~10<sup>3</sup>  
 ~10<sup>2</sup>



INSTAND-K03\_I/10



Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene  
 Universität Regensburg, FJS-Allee 11, 93053 Regensburg  
<http://www.udo-reischl.de>

INSTAND e. V.  
 Gesellschaft zur Förderung der Qualitätssicherung  
 in medizinischen Laboratorien e.V.  
<http://www.instand-ev.de>



## 541 Bakteriengenom-Nachweis *Mycoplasma pneumoniae* status 04.2010

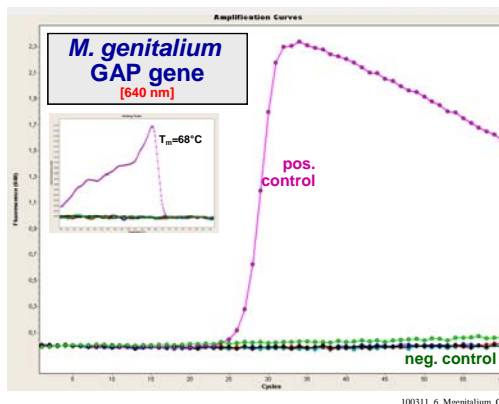
### Evaluation (quantitative Real-Time PCR):

Reischl / Linde / Wolf / Jacobs

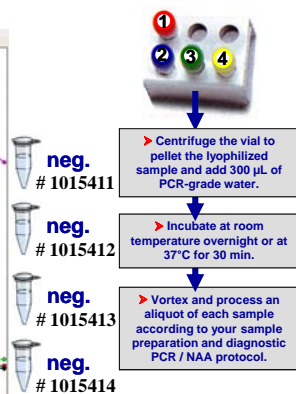
1	1015411	
2	1015412	
3	1015413	
4	1015414	
5	Pos. Ko. M. genitalium	25,03
6	NTC	



**LightCycler PCR protocol:**  
 unpublished in house protocol  
 (Reischl, U., Regensburg).



Genome copies per  
 5 µl template DNA input:



INSTAND-K03\_I/10



**541 Bakteriengenom-Nachweis *Mycoplasma pneumoniae*** status 04.2010

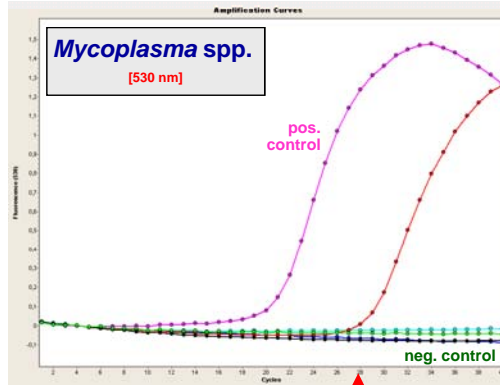
**Evaluation (quantitative Real-Time PCR):**

Reischl / Linde / Wolf / Jacobs

- 1 1015411
- 2 1015412
- 3 1015413 27,61
- 4 1015414
- 5 Pos. Ko. M. pneum. spp 19,71
- 6 NTC

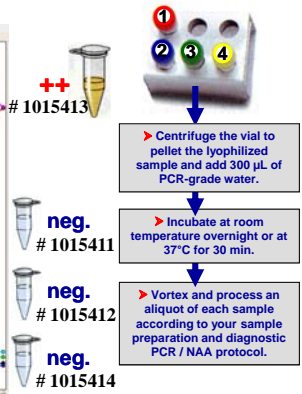


LightCycler PCR protocol:  
 unpublished in house protocol  
 (Reischl, U., Regensburg).



Genome copies per  
 5 µl template DNA input:

~10<sup>2</sup>



INSTAND-K04\_I/10



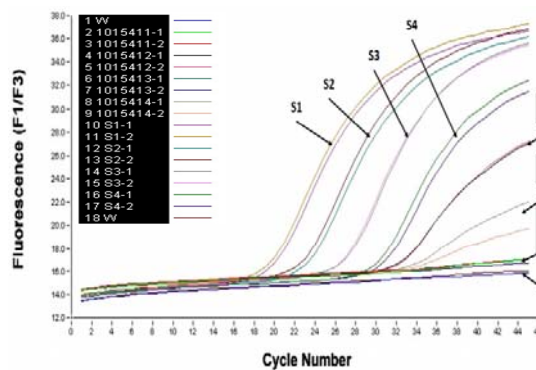
**541 Bakteriengenom-Nachweis *Mycoplasma pneumoniae*** status 04.2010

**Evaluation (quantitative Real-Time PCR):**

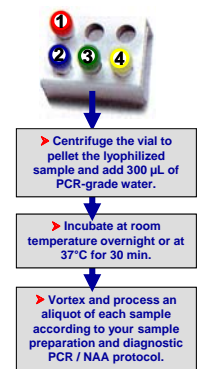
Reischl / Linde / Wolf / Jacobs



Data kindly provided by:  
 Dr. Roger Dumke  
 Institut für Medizinische Mikrobiologie  
 und Hygiene, TU Dresden, Germany



Ergebnisse der in-house real-time PCR (Zielsequenz: repMp1)  
 zum Nachweis von *M. pneumoniae*



INSTAND-K05\_I/10